

# Kuningattarien tappaminen superkoloniaalisella tupsukekomuurahaisella (*Formica aquilonia*)



"The three soldier ants advanced, their ten-foot-long antennae waving and bobbing in a mesmerizing way, trying to distract me from the true danger of their mandibles. -- Defeating one ant had taken all my energy."

- Rick Riordan, The Hidden Oracle

**Rosanna Lindgren**

Pro gradu -tutkielma

kesäkuu 2019

Ekologia ja evoluutiobiologia

Bio- ja ympäristötieteellinen tiedekunta

Helsingin yliopisto



Tiedekunta/Osasto □ Fakultet/Sektion – Faculty Bio- ja ympäristötieteellinen tiedekunta		Laitos □ Institution – Department Bio- ja ympäristötieteiden laitos	
Tekijä□□□Författare – Author Rosanna Lindgren			
Työn nimi□□ Arbetets titel – Title Kuningattarien tappaminen superkoloniaalisella tupsukekomuurahaisella ( <i>Formica aquilonia</i> )			
Oppiaine □ Läroämne – Subject Ekologia ja evoluutiobiologia			
Työn laji□□ Arbetets art – Level Pro gradu -tutkielma		Aika□□ Datum – Month and year kesäkuu 2019	Sivumäärä□□ Sidoantal – Number of pages 55 + liitteet
Tiivistelmä□□ Referat – Abstract			
<p>Muurahaisten aitososiaalisuus perustuu palautumattomaan kastijakoon, jonka seurauksena lisääntymiskyvyttömiä työläisten epäsuora kelpoisuus perustuu sukulaisten lisääntymisen avustamiseen. Palautumattoman kastijaon saavuttaminen muurahaisten kehityshistoriassa on vaatinut korkeaa sukulaisuutta yhdyskunnan kesken. Tämä on mahdollistunut, kun yksiaviainen kuningatar on muninut kaikki työläiset. Suomen yleisin kekomuurahainen, tupsukekomuurahainen (<i>Formica aquilonia</i>) muodostaa metsämme kuitenkin superkolonioita, joissa jopa sadat keot ovat poluilla yhteydessä toisiinsa ja joka keossa on useita, jopa satoja munivia kuningattaria. Nuoret kuningattaret eivät yleensä lähde lisääntymiskaudella häälenolle, vaan parittelevat syntymäkekonsa pinnalla ja liittyvät uusiksi lisääntyjiksi superkoloniaan. Tähän voi olla syynä, että itsenäinen levittäytyminen on liian riskialtista kuningattarille. Superkolonia laajenee, kun kuningattaret ja työläiset lähtevät jalan perustamaan uusia kekoja. Tunnetuimmat vieraslajimuurahaiset ovat superkoloniaalisia ja elintapa on kekomuurahaisillekin oiva keino vallata metsänpohjia muilta muurahaislajeilta. Superkoloniaalisuus kuitenkin laskee kolonian keskinäistä sukulaisuutta, sillä yksi kuningatar ei ole koko kolonian emo. Tämä uhkaa sukulaisvalintateorian mukaan työläisten altruismia, joka on perusta koko muurahaiskolonian toiminnalle. Superkolonia voi olla evolutiivinen umpikuja, sillä alhainen sukulaisuus lisää itsekkyyttä ja kiistoja, jotka uhkaavat hajottaa yhdyskunnan. Erällä superkoloniaalisilla muurahaislajeilla työläiset tappavat kuningattaria ja tutkimukseni tavoite oli todistaa saman ilmiön tapahtuvan tupsukekomuurahaisella.</p> <p>Suunnittelin neljä erilaista kokoonpanoa muurahaisia ja vertasin kuningattarien kuolleisuutta niiden välillä. Sekä nuoret että vanhat kuningattaret olivat tarkkailussa keskenään ilman työläisiä (NQVQ), työläisten kanssa (NQT/VQT) sekä kaikkien kolmen osapuolen ollessa yhdessä (NQVQT). Keräsin luonnon superkoloniasta työläisiä, vanhoja kuningattaria ja koteloita, joista odotin nuorien kuningattarin kuoriutuvan. Nuoret kuningattaret olivat parittelemattomia ja juuri avanneet siipensä tarkkailun alkaessa. Merkitsin vanhat kuningattaret maalikynällä erottaakseni ne nuorista, kun näiden siivet putoavat. Seurasin muurahaisten käyttäytymistä päivittäin viikon ajan erityisissä muurahaisten tarkkailuun soveltuissa koepeksissä.</p> <p>Tulosteni perusteella nuoret kuningattaret selvisivät parhaiten ollessaan vanhojen kanssa ilman työläisiä. Havaittiin työläisten tappavan nuoria kuningattaria puremalla ja kuolleet raahattiin pois pesäkammioista. Vanhat kuningattaret puolestaan kärsivät työläisten poissaolosta. Työläiset hoivasivat niitä hyvin riippumatta nuorien läsnäolosta ja siitä, että vanhat olivat lähtöisin eri keosta kuin työläiset. Kuningattarien välillä ei ollut aggressiivisuutta.</p> <p>Herää kysymys, miksi nuoria kuningattaria tapetaan? Ne olivat kokeissani parittelemattomia, jolloin ne eivät voisi munia uusia työläisiä ja kuningattaria eli olisivat tarpeettomia kolonian tuottavuuden kannalta. On mahdollista, että työläiset ja vanhat kuningattaret halusivat nuorien lentävän omille teilleen, kun nämä puolestaan haluavat riskien ja alhaisen sukulaisuuden takia jäädä koloniaan. Tällöin kyseessä olisi levittäytymiskiista. Nuorien kuningattarien kuolleisuus oli suurempaa vanhojen kuningattarien ja työläisten kanssa (NQVQT) kuin vain työläisten kanssa (NQT). Vanhojen kuningattarien osallistuminen tappamiseen feromonivälitteisesti saattaa olla mahdollista. Paljon koteleita tuottaneiden kekojen työläiset tappoivat kuningattaria nopeammin, kun kaikki kolme osapuolta olivat yhdessä. On mahdollista, että suuri määrä kuningattaria ajaa työläiset karsimaan ylimääräisiä, varsinkin kun niillä on jo hyväkuntoisia edellisvuosien kuningattaria. Tappaminen voi mahdollisesti myös lisätä superkoloniassa työläisten keskinäistä sukulaisuutta, mikä nostaisi kelpoisuutta.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords tupsukekomuurahainen ( <i>Formica aquilonia</i> ), sukulaisvalinta, aitososiaalisuus, superkolonia, levittäytyminen, levittäytymiskiista			
Ohjaaja tai ohjaajat –Handledare – Supervisor or supervisors Heikki Helanterä ja Sanja Hakala			
Säilytyspaikka – Förläggställe – Where deposited Viikin kampuskirjasto			
Muuta tietoa – Övriga uppgifter – Additional information			



Tiedekunta/Osasto □ Fakultet/Sektion – Faculty Faculty of Biological and Environmental Sciences		Laitos □ Institution – Department Department of Biological and Environmental sciences	
Tekijä□□□Författare – Author Rosanna Lindgren			
Työn nimi□□ Arbetets titel – Title Queen execution in a supercolonial wood ant <i>Formica aquilonia</i>			
Oppiaine □ Läroämne – Subject Ecology and evolutionary biology			
Työn laji□□ Arbetets art – Level Master's thesis		Aika□□ Datum – Month and year June 2019	Sivumäärä□□ Sidoantal – Number of pages 55 + appendices
Tiivistelmä□□ Referat – Abstract <p>Eusociality in ants is based on obligate differences of castes and fitness of workers is indirect following from helping relatives to reproduce. Superorganismality of ant colonies has required high within-colony relatedness to evolve. This has been made possible by one monogamous queen who is the mother of the whole colony. However, the most common wood ant in Finland, <i>Formica aquilonia</i>, forms supercolonies, where even hundreds of nests each containing even hundreds of egg-laying queens, form a network. This kind of social structure is very effective way to compete with other ant species and thrive in habitats where food is patchily distributed and new colony sites can be hard to find. Dispersal of queens is typically very limited likely due to poor success of independent colony founding. Queens stay and continue reproducing even in their natal nest, which increases queen number and makes the relative relatedness in the supercolony very low. According to kin selection theory this is threatening to the inclusive fitness of both workers and queens. Low relatedness can cause severe conflicts inside the supercolony. Some supercolonial ant species are known to kill their new queens and the aim of my study was to prove that killings are happening also in <i>F. aquilonia</i>. I also discuss some of the possible reasons to kill queens.</p> <p>I designed four different treatments and compared the survival of queens between them. Both young and old queens were together without workers, with only their workers, and in one treatment where all three parties were together. In this way, I could see who kills who and whether the absence or presence of some party affects the killings. I collected ants, old queens and pupae from the forest and waited for pupae to hatch to get young, unmated, winged queens. I put the ants together in experiment nests, followed their behavior for 7 days and counted the number of dead and alive old and young queens each day.</p> <p>According to my results young queens did best with old queens without workers. Workers killed young queens by biting and dragged them out of the nest chambers. Old queens seemed to suffer without workers which confirms that these queens were normally taken care of. Queens seemed not to be aggressive towards each other.</p> <p>Why young queens are executed? Maybe because they were unmated, so they could not lay new worker force or queens. It is also possible that there is dispersal conflict in the supercolony. Workers and old queens (the mother colony) want the young ones to fly away and start their own colonies, so that kin-competition would decrease, one queen could have more fitness and hence the fitness of workers would increase as well. It is also possible that workers don't want extra queens when they have enough already, Old queens could possibly manipulate workers to kill young unrelated queens which could also explain why killing of young queens increased in their presence. Killing can also possibly increase worker relatedness in the supercolony, which could save their inclusive fitness and maintain this paradoxal social structure.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords <i>Formica aquilonia</i> , eusociality, kin selection, supercolony, dispersal, dispersal conflict			
Ohjaaja tai ohjaajat – Handledare – Supervisor or supervisors Heikki Helanterä and Sanja Hakala			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited Viikki Campus Library			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			

# Sisällys

<b>1. Johdanto</b>	4
1.1 Sukulaisvalintateoria ja muurahaisten aitososiaalisuus	4
1.2 Monta kuningatarta, monta pesää – muurahaisten vaihtelevat yhdyskunnat	6
1.3 Muurahaisyhdyskunnassa yksilöt ovat anonyymejä	8
1.4 Kuningattarien levittäytyminen	9
1.5 Levittäytyminen vaikuttaa monella tasolla mistä voi seurata konflikteja	10
1.6 Superkoloniaalisuus altistaa erilaisille konflikteille	12
1.7 Tutkimuskysymykset ja hypoteesit	14
<b>2. Aineisto ja menetelmät</b>	15
2.1 Tutkimuslaji <i>Formica aquilonia</i>	15
2.2 Superkolonian sijainti ja kekojen kartoittaminen	16
2.3 Vanhojen kuningattarien ja työläisten keruu	18
2.4 Koteloiden keruu ja nuoret kuningattaret	19
2.5 Käyttäytymiskokeet – Tappavatko työläiset kuningattaria?	20
2.6 Lajin määritys ja kuningattarien parittelun tarkistus	26
2.7 Tilastolliset menetelmät	28
<b>3. Tulokset</b>	29
3.1 Käyttäytymiskokeet ja kuningattarien selviytyminen	29
3.1.1 Havaittu aggressiivisuus	29
3.1.2 Kuningattarien selviytyminen	31
3.2 Kartta keoista	35
3.3 Lajinmääritys	35
3.4 Kuningattarien parittelun tarkistus	36
<b>4. Tulosten tarkastelu</b>	37
4.1 Muurahaisten käyttäytyminen ja kuningattarien selviytyminen	37
4.2 Miksi työläiset tappavat nuoria kuningattaria?	38
4.3 Vanhat kuningattaret murhaajina?	40
4.4 Levittäytymiskiista superkoloniaalisella muurahaisella?	42
4.5 Miten superkoloniaalisuus on kehittynyt? Säilyvätkö superkoloniat?	43
4.6 Huomioita tutkimuksen toteutuksesta ja kehittämisestä	46
<b>5. Johtopäätöksiä</b>	47
<b>6. Kiitokset</b>	48
<b>7. Lähteet</b>	49
<b>8. Liitteet</b>	56

# 1. Johdanto

## 1.1 Sukulaisvalintateoria ja muurahaisten aitososiaalisuus

Charles Darwinin (1859) evoluutioteorian mukaan luonnonvalinnan myötä jotkut yksilöt saavuttavat ominaisuuksillaan suuremman kelpoisuuden kuin toiset eli ne selviävät ja lisääntyvät menestyksekkäämmin verrattuna muihin yksilöihin, jolloin niiden jälkeläiset runsastuvat populaatiossa. Noin 100 vuotta myöhemmin (1964) William Hamilton esitti oman evoluutiobiologiaa ja kelpoisuutta mullistaneen teoriansa, jonka mukaan yksilön ominaisuudet voivat runsastua muutenkin kuin omien jälkeläisten kautta. Hän ymmärsi, että geeni, joka saa yksilön auttamaan muita pääsee runsastumaan, jos autettavat kantavat samaa geeniä ja auttaminen hyödyttää niin paljon, että auttajalle koituneista kustannuksista huolimatta geeni leviää luonnonvalinnan myötä (Hamilton 1963). Sukulaisvalinnan teorian mukaan auttamalla sukulaista lisääntymisessä yksilö voi jopa luopua omasta lisääntymisestään, jos sukulaisuus on korkea eli yksilöt jakavat paljon samoja geenejä (Hamilton 1964 a, b). Näin auttaja siirtää sukulaisen välityksellä kopioita omista geeneistään epäsuorasti seuraavaan sukupolveen. Hamilton kehitti kokonaiskelpoisuuden käsitteen, jonka mukaan yksilön kelpoisuus muodostuu siten sen omasta lisääntymismenestyksestä (suora kelpoisuus) ja kyvystä auttaa sukulaisia lisääntymään (epäsuora kelpoisuus) (Hamilton 1964 a, b; Bourke 2014).

Muurahaisten ja useimpien muiden pistiäisten yhteiskunnat ovat aitososiaalisia (Boomsma & Gawne 2018). Nykyisen määritelmän mukaan aitososiaalisiksi luetaan lajit, joilla vähintään kaksi sukupolvea muodostaa perheryhmän, jonka jäsenten välillä on työnjakoa ja jälkikasvu hoidetaan yhteistyönä (Crespi & Yanega 1995; Boomsma & Gawne 2018). Termin alle sopii siten laaja kirjo erilaisia lisääntymisyhteistyön muotoja niin hyönteisiltä, linnuilta kuin nisäkkäiltäkin (Boomsma & Gawne 2018). Muurahaisten aitososiaalisuus on kuitenkin ainutlaatuista, sillä työnjako on kehittynyt niin pitkälle, että yhdyskunta voidaan jakaa fysiologisesti erilaisiin kasteihin, jotka ovat erikoistuneet omiin tehtäviinsä (Wheeler 1911; Trivers & Hare 1976; Boomsma 2007). Lisääntymisestä vastaa hedelmöittynyt naaras eli kuningatar, pesueen hoidosta, ravinnon hankinnasta, pesän rakentamisesta ja puolustuksesta vastaavat kuningattaren naarasjälkeläiset, työläiset, jotka ovat luopuneet omasta lisääntymisestään (Wheeler 1911; Trivers & Hare 1976; Boomsma 2007). Muurahaistyöläisille tyypillistä käyttäytymistä, jossa yksilön oma lisääntyminen (suora kelpoisuus) kärsii sen auttaessa toista lisääntymään, kutsutaan biologiassa altruismiksi (Trivers 1974; Wilson & Hölldobler 2005; West & Gardner 2010). Altruismi ei voisi evoluution seurauksena kehittyä, jos työläisen kelpoisuus vain laskisi ja sukulaisvalinnalla

käyttäytymistä on kyetty selittämään (Queller & Strassmann 1998; West & Gardner 2010; Bourke 2014). Työläiset kerryttävät niin paljon epäsuoraa kelpoisuutta sukulaisia hoitamalla, että ne voivat luopua omasta lisääntymisestään (Hamilton 1964 a, b).

Pistiäisille tyypillisesti muurahaisten sukupuolen määräytyminen on haplodiploidinen (Trivers & Hare 1976; Cook 1993). Koiraat ovat haploideja eli ne kehittyvät hedelmöittymättömästä munasolusta, jolloin niillä on soluissaan yksi kopio kaikista geeneistä. Naaraat (kuningattaret ja työläiset) ovat diploideja eli ne kehittyvät hedelmöittyneistä munasoluista, jolloin niillä on soluissaan kaksi versiota kustakin geenistä (Trivers & Hare 1976; Cook 1993). Se kehittykö naaraasta työläinen vai kuningatar on lajista riippuen kiinni enemmän ja vähemmän toukan saamasta ravinnosta ja geeneistä (Schwander ym. 2010). Haplodiploidian seurauksena työläisen sukulaisuusaste sisartyöläisten ja -kuningattarien kanssa voi olla 0,75 ( $=0,5*1+0,5*0,5$ ), kun omiin jälkeläisiin sukulaisuus olisi 0,5 (Hamilton 1964 b; Trivers & Hare 1976). Haplodiploidiateorian mukaan juuri tämä voi tehdä pistiäisistä alttiita altruismin kehittymiselle (Hamilton 1964 b; Trivers & Hare 1976; Queller & Strassmann 1988). Tämä ei kuitenkaan ole saanut tukea tutkimuksissa, sillä Hamiltonin säännön mukaiset ehdot altruismille voivat täytyä alemmillakin sukulaisuusasteilla, kun auttamisen hyötyjen ja kustannusten vaikutukset yksilöihin huomioidaan (Queller & Strassmann 1988).

Boomsman (2007) mukaan koloniassa lisääntyvän kuningattaren yksiavioisuus ja kyky varastoida spermaa ovat olleet tärkeämpiä edellytyksiä altruismin kehitykselle, sillä nämä takaavat, että työläisillä on samat vanhemmat ja kolonian sisäinen sukulaisuus korkea. Useimmilla muurahaislajeilla kuningatar parittelee tyypillisesti vain kerran yhden koiraan kanssa ja käyttää sen spermaa vuosien lisääntymisurakkaansa parittelematta uudestaan (Boomsma 2007). Korkea sukulaisuus takaa epäsuoran kelpoisuuden kertymistä, jonka turvin työläiset voivat luopua omasta lisääntymisestään ja palautumaton kastijako mahdollistuu (Boomsma 2007).

Myös tietyt ekologiset tekijät muurahaisten kehityshistoriassa ovat luoneet tarvetta kastijaon synnylle. Toukkia on kasvatettu suuria määriä samaan aikaan (Wilson 2008), joten lisääntymisen onnistuminen on vaatinut aikuissukupolvien yhteistyötä (Queller & Strassmann 1998). Muurahaiset ovat asuttaneet metsiä kehityksensä alusta asti ja rakentaneet jälkeläisten suojaksi pesän, jonka puolustaminen on vaatinut joukkovoimaa (Wilson & Hölldobler 2005). Toukille ja muulle kolonialle on saalistettu ja kerätty ravintoa pesän ulkopuolelta toisinkuin termiiteillä, jotka asuvat ravinnossaan (Queller & Strassmann 1998). Pesää ympäröivän reviirin puolustaminen on taannut ravinnon paremman riittävyyden kolonialle ja suojellut sitä tunkeilijoilta (Hölldobler & Lumsden 1980; Wilson & Hölldobler 2005). Kun työläiskasti kehittyi ravinnonhaku-

ja puolustustehtäviin, yhteiskunnan toiminta tehostui, eikä lisääntyjien tarvinnut enää poistua pesästä ja vaarantaa henkeään (Queller & Strassmann 1998; Wilson & Hölldobler 2005).

## 1.2 Monta kuningatarta, monta pesää – muurahaisien vaihtelevat yhdyskunnat

Vielä jokunen vuosikymmen sitten oletettiin, että muurahaiskoloniassa on yksi kerran paritellut lisääntyvä kuningatar ja työläiset ovat keskenään täyssisaria (Heinze 2008). Tällaisia yksinkertaisia kolonioita toki on, mutta valtaosalla lajeista on kolonioissaan aivan toisenlainen järjestely (Pamilo 1991; Heinze 2008; Boomsma ym. 2014). Useilla lajeilla on samassa koloniassa monta lisääntyvää kuningatarta (Hölldobler & Wilson 1977; Pamilo 1991; Keller 1995) ja joillakin lajeilla kuningatar voi paritella usean koiraan kanssa (Pamilo 1991).

Polygynia eli monikuningattarisuus voi olla primaarista tai sekundaarista (Hölldobler & Wilson 1977). Primaarinen tarkoittaa, että useat kuningattaret perustavat pesän alusta alkaen yhdessä (pleometroosi) ja jatkavat lisääntymistä sen jälkeen yhteisessä koloniassaan. Sekundaarinen monikuningattarisuus puolestaan seuraa, kun työläiset adoptoivat uusia kuningattaria seuraavasta sukupolvesta jo olemassa olevaan koloniaan, joka on alun perin yhden kuningattaren perustama (Hölldobler & Wilson 1977). Primaarista monikuningattaraisuutta ei juuri tunneta muurahaisilta (Boomsma ym. 2014) vaan tavallisesti pleometroosin jälkeen, työläisten kuoriuduttua, kuningattaret aloittavat taistelun tai työläiset tappavat niitä, kunnes vain yksi jää koloniaan lisääntyjäksi (Heinze & Weber 2011). Sekundaarista monikuningattaraisuutta sen sijaan esiintyy 23 %:lla muurahaislajeista (Boomsma ym. 2014) ja Euroopan lajeista peräti puolet on monikuningattarisia (Pamilo & Rosengren 1984). Tavallisesti adoptoidut nuoret kuningattaret ovat paritelleita ja kolonian omia tyttäriä eli esimerkiksi työläisten siskoja (Keller 1995; Boomsma ym. 2014). Kuningattarien määrä vaihtelee lajien välillä, saman lajin eri populaatioiden välillä, sekä saman populaation eri pesien välillä (Keller 1995; Evans 1996; Chapuisat ym. 2004). Yksittäisessä pesässä voi olla lajista riippuen muutamasta yli sataan kuningatarta (Keller 1995).

Myös polydomia eli monipesäisyys on yleistä muurahaisilla (Debout ym. 2007). Kolonia on monipesäinen, kun vähintään kahta tai useampaa erillistä pesää asuttavat muurahaiset tekevät yhteistyötä ja liikkuvat pesästä toiseen. Pesä määritellään tässä tapauksessa rakenteeksi, jota ensisijaisesti työläiset, toukat ja kotelot asuttavat. Kuningattaren ei tarvitse olla samassa pesässä, koska työläiset huolehtivat jälkikasvusta. Monipesäisyys voi olla kausiluontoista, jolloin kolonia talvehtii yhdessä pesässä ja jakautuu lisääntymiskauden ajaksi useampaan pesään. Pesien määrä ei

riipu kuningatarmäärästä, sillä monipesäisellä kolonialla voi olla vain yksi tai useita kuningattaria, jolloin kuningattaria voi puuttua joistakin pesistä tai niitä voi olla monta kaikissa pesissä. (Debout ym. 2007).

Superkoloniaaliset muurahaislajit vievät sekä monikuningattarisuuden että monipesäisyyden äärimmilleen (Helanterä ym. 2009). Superkolonian jopa tuhannet pesät satoine kuningattarineen muodostavat verkoston, jossa muurahaiset liikkuvat yhdyspolkuja pitkin pesästä toiseen (Heller 2004; Helanterä ym. 2009; Moffett 2012). Superkoloniat tyypillisesti kasvavat vanhetessaan, mutta niiden koossa ja rakenteessa on vaihtelua (Hoffmann 2014). Samalla lajilla voi esiintyä pieniä ja tiiviitä kolonioita ja toisaalta hyvin suuria laajuudeltaan yli 100 km<sup>2</sup> kolonioita (Hoffmann 2014). Muita superkolonioille tunnusomaisia piirteitä ovat puuttuva aggressiivisuus kolonian pesien välillä ja resurssien jako pesien kesken (Heller 2004; Helanterä ym. 2009; Seifert 2010; Hoffmann 2014). Näin superkoloniat panostavat yksittäisten pesien aggressiivisen vartioinnin sijaan yhteiseen hyvään eli uusiin pesiin ja muurahaisiin (Helanterä ym. 2009), mikä tekee niistä ekologisesti menestyksekkäitä ja hyviä kilpailijoita (Heller 2004).

Haitallisina vieraslajimuurahaisina tunnetut argentiinanmuurahainen (*Linepithema humile*) (Tsutsui ym. 2000) ja tulimuurahainen (*Solenopsis invicta*) (Ascunce ym. 2011) ovat superkoloniaalisia. Faaraomuurahainen (*Monomorium pharaonis*) on myös laajalle levinnyt vieraslaji, jolla on superkoloniaalisia piirteitä (Frouz ym. 2009). Pihamauriaisien superkoloniaalinen sukulaislaji (*Lasius neglectus*) on potentiaalinen paha vieraslaji Euroopassa (Seifert 2010). Argentiinanmuurahaisen superkoloniat ovat poikkeuksellisen suuria ja osa niistä vaikuttaa Moffettin (2012) mukaan laajenevan sopivissa olosuhteissa loputtomasti. Kalifornian rannikkoa myötäilevä suuri kolonia on jopa 1000 km pitkä (Thomas ym. 2006) ja koostuu jopa miljardista muurahaisesta (Moffett 2012). Tällaiset suuret vieraslajikoloniat syrjäyttävät tehokkaasti alkuperäistä muurahaislajistoa ja ovat tätä kautta tuhoisia koko paikalliselle ekosysteemille (Holway ym. 2002). Vieraslajimuurahaisista on myös haittaa esimerkiksi viljelyksille (Holway ym. 2002).

Kekomuurahaisilla ja muulla *Formica* -suvulla koloniarakenne voi vaihdella saman lajin sisällä siten, että osalla kolonioista on useita pesiä ja lisääntyviä kuningattaria, osalla vain yksi pesä ja siinä yksi kuningatar (Hölldobler & Wilson 1977; Sundström ym. 2005; Boomsma ym. 2014). *Formica*-suvussa esiintyy myös superkoloniaalisuutta. Japanissa elävän superkoloniaalisen *Formica yessensis* kolonia koostuu 45 000 pesästä arviolta miljoonasta kuningattaresta ja 300 miljoonasta työläisestä (Higashi & Yamauchi 1979). Romaniassa karvaloviniskan (*Formica exsecta*) koloniassa on yli 3000 pesää 22 hehtaarilla ja se on Euroopan tähän asti suurin *Formica* -suvun superkolonia (Markó ym. 2012). Euroopan superkoloniaalisia kekomuurahaisia ovat kaljukekomuurahainen (*Formica polycтена*), tämän työn laji tupsukekomuurahainen (*Formica*



*aquilonia*) (Helanterä & Sundström 2007; Helanterä ym. 2009), karvakekomuurahainen (*Formica lugubris*) (Fortelius ym. 1993) sekä tämän lähilaji *Formica paralugubris* (Chapuisat & Keller 1999). Näillä koloniassa voi olla satoja (Sorvari ym. 2008) jopa päälle tuhat kekoa (Chapuisat & Keller 1999) ja yhdessä keossa sadoista (Sorvari ym. 2008) jopa tuhanteen kuningatarta (Chapuisat & Keller 1999). Superkoloniaaliset kekomuurahaiset ovat tavallisesti metsien runsaslukuisimpia ja muita lajeja syrjäyttäviä (Savolainen & Vepsäläinen 1988), mutta eivät vieraslajeja (Tsutsui ym. 2000).

### 1.3 Muurahaisyhdyskunnassa yksilöt ovat anonyymejä

Yhteisö perustuu siihen, että siihen kuuluvat yksilöt tunnistavat toisensa saman yhteisön jäseniksi ja toisaalta kuka ei kuulu omaan yhteisöön (Bos & d'Ettorre 2012; Moffett 2012).

Muurahaistyöläisille tämä on erityisen tärkeää, koska sukulaisvalintateorian mukaan nepotismi eli sukulaisiin valikoivasti kohdistuva hoiva on kannattavaa (Hamilton 1964 a, b). Myös koloniaa ympäröivien ravinnonhaku alueiden puolustaminen vierailta on tärkeää (Hölldobler & Lumsden 1980) ja tunkeilijoiden torjuminen edellyttää niiden tehokasta tunnistamista (Bos & d'Ettorre 2012). Tutkimusten perusteella superkolonian työläiset voivat hyväksyä toisensa saman kolonian kaukaistenkin pesien välillä, mutta kolonian rajojen ylittyessä aggressiivisuutta ilmenee naapurikolonian yksilöitä kohtaan (Holzer ym. 2006; Thomas ym. 2006). Kaliforniassa argentiinanmuurahaisten superkolonioiden rajalla käydään rajuja taisteluja, joissa menehtyy valtavia määriä työläisiä (Thomas ym. 2006). Isosta koostaan ja monimutkaisuudestaan huolimatta superkoloniakin siis toimii yksikkönä ja puolustaa reviiriään tunkeilijoilta siinä missä muutkin muurahaiskolonioiden (Moffett 2012).

Muurahaiset tunnustelevat toisiaan tuntosarvillaan ja erottavat pesätoverinsa tunkeilijoista ruumista peittävän ulkoisen tukirangan, kutikulan, hiilivetymolekyylien (CHC) perusteella (Howard & Blomquist 2005; Martin ym. 2012). CHC -yhdisteet voivat kertoa myös mihin kastiin kohdattu muurahainen kuuluu (Bos & d'Ettorre 2012) ja kuinka lisääntymiskykyinen kuningatar on (Hannonen ym. 2002). Muurahaisilla on hiilivetyjä myös rauhasissaan (Howard & Blomquist 2005), jolloin niillä voidaan merkitä polkuja (Sturgis & Gordon 2012). Isossa muurahaisyhdyskunnassa, varsinkin superkoloniassa, on mahdotonta, että kaikki sen jäsenet ehtisivät lyhyen elämänsä aikana kohdata toisiaan tai muistaa toisensa yksilöllisesti (Moffett 2012). Muurahaisen perimä vaikuttaa sen CHC profiiliin, mutta ravinnolla ja ympäristöllä on tutkimusten

perusteella suurempi vaikutus (Martin ym. 2012). Näin ollen koloniatovereilla on samankaltainen CHC -koostumus kutikulassaan, koska ne elävät samassa ympäristössä, syövät samanlaista ravintoa ja vaihtavat viestiaiaineita ruokkiessaan ja puhdistautuessaan toisiaan (Guerrieri ym. 2009).

Monipesäisessä koloniassa yhteisen hajun ylläpitäminen vaatii muurahaisien aktiivista vaihtuvuutta pesien välillä (Depout ym. 2007) ja työläiset voivat tätä varten tarkoituksella kanniskella toisiaan pesästä toiseen (Dahbi ym. 1997). Kolonian ominaishaju peittää yksilöllisen geneettisen vaihtelun (Martin ym. 2012), joten muurahaisyhteisön jäsenet ovat toisilleen saman hajuista anonyymiä massaa, vaikka sukulaisuus ei olisi erityisen korkea (Guerrieri ym. 2009; Moffett 2012). Vasta tarpeeksi poikkeavan hajun kohdatessaan, muurahainen ymmärtää havainneensa tunkeilijan (Guerrieri ym. 2009) ja reagoi tähän yleensä aggressiivisesti (Hölldobler & Lumsden 1980).

#### 1.4 Kuningattarien levittäytyminen

Dispersaali eli levittäytyminen on ekologinen prosessi, jossa populaation yksilö liikkuu pois synnyinpaikaltaan uudelle alueelle tai toiseen populaatioon (Bowler & Benton 2005).

Levittäytymisen vaiheita ovat päätös lähtemisestä, liikkuminen paikasta toiseen ja asettuminen uuteen paikkaan (Bowler & Benton 2005). Muurahaiset tavallisesti parittelevat levittäytymisen yhteydessä, kun pesässä kypsyneet koiraat ja kuningattaret lentävät lisääntymiskauden alussa häälennon (Heinze & Tsuji 1995), joka voi päättyä myös tietylle parittelupaikalle (Fortelius ym. 1993; Chapuisat ym. 2004). Parittelun jälkeen koiras kuolee ja hedelmöittynyt kuningatar lentää sopivalle pesäpaikalle, pudottaa siipensä ja perustaa yhteiskunnan munimalla työläisiä ja myöhemmin koiraita ja uusia kuningattaria (Heinze & Tsuji 1995). Vaikka kuningattarien lentäminen ja itsenäisen kolonian perustaminen on yleistä, levittäytymistavassa on suurta lajikohtaista vaihtelua (Passera & Keller 1990; Heinze & Tsuji 1995). Eräillä lajeilla vain koiraat lentävät ja toisilla parittelu tapahtuu pesän sisällä (Passera & Keller 1990; Heinze & Tsuji 1995). Lentämisen sijaan kuningatar voi pariteltuaan lähteä jalan työläisjoukon kanssa syntymäpesästään perustamaan uutta pesää, jolloin kyseessä on työläisistä riippuvainen silmikoiva levittäytyminen (Keller 1991; Heinze & Tsuji 1995).

Kolonian kuningatarmäärällä vaikuttaa olevan yhteys kuningattarien fysiologisiin ominaisuuksiin ja levittäytymistapaan (Passera & Keller 1990; Keller 1991; Sundström ym. 2005). Jos lajilla on koloniassaan vain yksi lisääntyvä kuningatar, uudet kuningattaret lähtevät tyypillisesti häälennolle ja perustavat kukin uuden kolonian itsenäisesti (Keller 1991). Niillä on lentämistä

varten kunnon glykogeenivarastot, joista pilkkoutuvilla sokereilla ravitaan kookkaita lentolihaksia (Passera & Keller 1990) ja siivet ovat hyvin kehittyneet (Heinze & Tsuji 1995). Ennen lentämistä kuningattaret kerryttävät ruumiiseensa myös varastoproteiineja ja -rasvaa, joiden turvin ne munivat ensimmäiset työläiset (Wheeler & Buck 1996; Keller & Passera 1989 b). Nämä varastot kuluvatkin kolonian perustamisvaiheessa lähes loppuun (Wheeler & Buck 1996). Monikuningattarisilla lajeilla kolonian kuningattaret parittelevat tyypillisesti lähellä syntymäpesäänsä, pudottavat nopeasti siipensä, jäävät sen jälkeen lisääntymään syntymäpesään tai lähtevät jalan perustamaan uutta pesää työläisten kanssa (Keller 1991; Sundström ym. 2005). Silmikoivan levittäytymisen seurauksena monipesäinen kolonia kasvaa, mikäli yhteys uuden ja vanhan pesän välillä säilyy (Debout ym. 2007). Koska kuningattaret eivät levitäydy itsenäisesti ja kauas, niillä on usein heikommin kehittyneet lentolihakset ja ne ovat varastoaineiden vähäisyyden vuoksi pieniä (Keller & Passera 1989 b; Heinze & Tsuji 1995).

Monilla superkoloniaalisilla lajeilla seksuaalimuotojen levittäytyminen on hyvin vähäistä (Passera & Keller 1990; Chapuisat & Keller 1999; Seppä ym. 2012). Argentiinanmuurahaisella kuningattaret eivät lennä lainkaan, vaan parittelevat syntymäpesässään koiraiden kanssa (Passera & Keller 1992). Sen sijaan silmikoiva levittäytyminen työläisten kanssa on superkolonioissa yleistä (Chapuisat ym. 1997; Hoffmann 2014; Hamidi ym. 2017). Se voikin olla vain keino laajentaa superkoloniaa, sillä kuningattaret eivät varsinaisesti poistu koloniasta, mutta uusia pesiä syntyy, jolloin työläiset saavuttavat uusia ravinnonhakualueita (Hamidi ym. 2017). Myös superkoloniaalisilla kekomuurahaisilla kuningattarien levittäytyminen on vaatimatonta (Fortelius ym. 1993; Chapuisat & Keller 1999; Sundström ym. 2005). Ne voivat pudottaa siipensä jo ennen parittelua, paritella syntymäpesässä ja liittyä suoraan kuningatarjoukkoon (Fortelius ym. 1993). *Formica paralugubriksella* valtaosa kuningattarista parittelee saman pesän koiraiden kanssa ja ne adoptoidaan omaan koloniaansa (Chapuisat & Keller 1999). Toisaalta kekomuurahaisilla (Fortelius ym. 1993; Chapuisat & Keller 1999) ja eräillä muilla superkoloniaalisilla lajeilla (Hoffmann 2014; Hamidi ym. 2017) kuningattaret ovat kuitenkin säilyttäneet myös kyvyn lentää ja perustaa uuden kolonian itsenäisesti. Pitkä lentomatka voi päättyä myös toiseen superkoloniaan (van der Hammen ym. 2002). Liian lyhyt lento puolestaan päättää levittäytymisen oman superkolonian rajojen sisäpuolelle (Seppä ym. 2012).

## 1.5 Levittäytyminen vaikuttaa monella tasolla mistä voi seurata konflikteja

Lähtökohtaisesti yksilö päättää omasta lähtemisestään ja levittäytyminen on sille kannattavaa, jos siirtyminen toiseen paikkaan parantaa sen kelpoisuutta esimerkiksi lisääntymiskumppanin tai paremman elinalueen löytymisen seurauksena (Bowler & Benton 2005). Levittäytyminen vaikuttaa kuitenkin myös eri organisaatiotasolla yksittäisistä geeneistä populaatioihin ja lajeihin. Tyhjien alueiden asuttaminen on geenien kannalta edullista, sillä ne pääsevät leviämään ja runsastumaan kun niitä kantavat yksilöt lisääntyvät (Comins ym. 1980). Levittäytyminen on oleellista lajin säilymisen kannalta, sillä uusia populaatioita tavallisesti perustetaan sen seurauksena (van Valen 1971). Levittäytyminen on monesti riippuvainen populaation koosta ja elinympäristöstä (Bowler & Benton 2005). Elinalueen liikakansoitus aiheuttaa esimerkiksi pulaa ravinnosta, mikä ajaa yksilöitä etsimään uutta paikkaa (Bowler & Benton 2005). Paikallinen kilpailu vähenee, kun osa populaatiosta siirtyy muualle (Motro 1991) ja populaation kasvaessa levittäytymismatka oletettavasti pitenee kilpailun välttämiseksi (Starrfelt & Kokko 2010). Levittäytyminen vähentää myös sisäsiirtoisuuden riskiä (Motro 1991). Toisaalta sukulaisten pysyminen yhdessä tiiviinä populaationa rajoittuneen levittäytymisen seurauksena voi edistää altruismin kehittymistä, sillä auttaminen mahdollistuu (Mitteldorf & Wilson 2000). Toisaalta, jos sukulaiset jäävät samalle alueelle kilpailemaan resursseista ja lisääntymisestä, altruismi menettää kannattavuuttaan, sillä kilpailijoita ei kannata auttaa (Hamilton & May 1977; Queller 1992). Mitä suurempi sukulaisuus yksilöiden välillä on, sitä kannattavampaa on lähteä sukulaisten välisen kilpailun vähentämiseksi (Farrel ym. 2015).

Uuteen paikkaan siirtymisessä on kuitenkin omat riskinsä eikä lähteminen siksi ole yksilön kelpoisuudelle väistämättä hyväksi (van Valen 1971; Hamilton & May 1977; Comins ym. 1980; Bowler & Benton 2005). Liikkumiseen kuluu energiaa ja riski joutua saaliiksi voi kasvaa (Bowler & Benton 2005). Sopivan elintilan täytyminen ja kasvava kilpailu pesäpaikoista voi johtaa siihen, ettei lisääntymislevittäytyminen ole kannattavaa (Comins ym. 1980). Luonnonvalinta ajaa yksilön maksimoimaan kokonaiskelpoisuutensa (Hamilton 1964 a) ja geneettisesti erilaisilla yksilöillä on tämän onnistumiseksi erilaiset tavoitteet (Trivers 1974). Valinta voi ajaa yksilöitä jäämään riskien takia paikalleen, vaikka lähteminen olisi sukulaisten kelpoisuuden kannalta parempi (van Valen 1971; Motro 1983). Erilaiset valintapaineet voivat johtaa levittäytymispäätöstä koskeviin kiistoihin. Näistä tunnetuimpia on vanhemman ja jälkeläisen välinen hoivakiista ja nuoruuslevittäytymiseen liittyvä kiista (Trivers 1974; Hamilton & May 1977; Motro 1983). Kun poikaset selviävät jo ilman emoaan, hoivan jatkamisesta alkaa koitua emolle enemmän kustannuksia kuin hyötyä poikasille (Trivers 1974). Lisäksi, koska emo on yhtä paljon sukua kaikkiin jälkeläisiinsä, sen kelpoisuudelle on edullista, että jälkeläiset lievittävät levittäytymällä keskinäistä kilpailuaan (Motro 1983). Jälkeläiset puolestaan ovat korkeampaa sukua itselleen kuin

sisaruksilleen ja voivat riskien takia viivytellä pesästä lähtöä ja pyrkiä saavaan hoivaa enemmän kuin on emon ja sisarusten kelpoisuuden kannalta järkevää (Trivers 1974). Koska vanhemmat kontrolloivat jälkeläistensä hoivan saantia ja ovat vahvempia, ne todennäköisemmin voittavat kiistat (Motro 1983). Nelisormimangusteilla (*Suricata suricatta*) lisääntymistä dominoivat naaraat pakottavat ryhmän muita naaraita lähtemään ja tappavat niiden pentuja (Clutton-Brock ym. 1998). Punaketuilla (*Vulpes vulpes*) jälkeläiset lähtevät vapaaehtoisesti välttääkseen sisäsiittoisuutta ja kilpailua emonsa kanssa (Whiteside ym. 2011). Levittäytymistä voidaan pitää altruismina, jos yksilö lähtee riskeistä huolimatta muualle ja lisää samalla sukulaisten kelpoisuutta vähentämällä paikallista kilpailua (Trivers 1974).

## 1.6 Superkoloniaalisuus altistaa erilaisille konflikteille

Muurahaiskoloniassa voi rauhaisalta vaikuttavasta yhteiselosta huolimatta syntyä kiistoja, kun yksilöt yrittävät maksimoida omaa kokonaiskelpoisuuttaan itsekkäällä toiminnalla (Ratnieks ym. 2006). Kiistojen mahdollisuus on aina olemassa, sillä korkeastakin sukulaisuudesta huolimatta koloniassa on geneettisesti erilaisia yksilöitä (Trivers 1974; Ratnieks ym. 2006). Superkolonioiden monimutkainen rakenne lisää entisestään kiistojen mahdollisuutta. Useat adoptoidut ja vanhat kuningattaret lisääntyvät samassa koloniassa (Pamilo 1991; Keller 1995), mistä luonnollisesti seuraa, ettei kaikilla kolonian työläisillä ole sama emo, jolloin ne eivät enää ole lähisukua toisilleen eivätkä kaikille kuningattarille (Keller 1995; Boomsma ym. 2014). Kuningattarien adoptoinnin jatkuessa sukupolvesta toiseen niiden määrä kasvaa, kolonia koostuu useista työläis- ja kuningatarsukupolvista ja kolonian keskinäinen sukulaisuus laskee entisestään (Keller 1995; Boomsma ym. 2014).

Suhteellinen sukulaisuus kolonian sisällä voi pudota lopulta nolnaan (Helanterä ym. 2009). Tämä tarkoittaa sitä, ettei kukaan ole sen läheisempää sukua kenenkään pesätoverin kanssa verrattuna koko muuhun koloniaan. Lisäksi useat äitilinjat ja hajujen sekoittuminen hankaloittavat sukulaisten tunnistamista (Keller & Passera 1989 a). Työläiset eivät näin ollen kykene kohdistamaan hoivaa lähisukulaisiin vaan saattavat hoitaa satunnaisia koloniatovereita, mikä heikentää niiden epäsuoraa kelpoisuutta (Helanterä ym. 2009). Sukulaisvalintateorian mukaan tämä voi johtaa työläisten ominaisuuksien häviämiseen (Keller 1995; Helanterä ym. 2009). Kuningattaret puolestaan joutuvat jakamaan hoivan satunnaisten yksilöiden kanssa ja yksittäisen kuningattaren jälkeläistuotto, eli suora kelpoisuus, on tällöin pienempi verrattuna tilanteeseen, jossa kuningatar on

kolonian ainoa lisääntyjä (Keller 1988, 1995). Ekologisesta kilpailukyvyystään huolimatta superkoloniaalinen elintapa siis laskee sukulaisuutta ja uhkaa sekä työläisten että kuningattarien kelpoisuutta, mikä voi lisätä itsekkyyttä ja johtaa kiistoihin.

Vanhojen kuningattarien kelpoisuudelle on itseasiassa edullista, jos lisääntymisoikeus siirtyy niiden omille tyttärille (Evans 1996). Superkoloniassa uudet kuningattaret voivat olla niille kuitenkin kaukaisempaa sukua (Keller 1995), jolloin adoptio on vanhoille kuningattarille epäedullista (Bourke & Chan 1999). Kuningattaret voivat kilpailla lisääntymisoikeudesta (Ratnieks ym. 2006). Vanhat kuningattaret voivat estää nuorien kuningattarien lisääntymistä (Pamilo 1991; Bourke & Chan 1999) esimerkiksi feromonilla, joka estää niiden lisääntymiskoneiston kehitystä (Fletcher & Blum 1981) tai saa työläiset tappamaan niitä (Passera ym. 1995). Kuningattarille on samantekevää ovatko niitä auttavat työläiset sukulaisia vai tuntemattomia (Boomsma ym. 2014) ja uudet kuningattaret voivat yrittää hyötyä vanhojen kuningattarien munimien työläisten hoivasta munimatta itse työläisiä (Bargum & Sundström 2007). Tällöin ne voivat panostaa kuningattarien ja koiraiden munimiseen ja saada geeninsä leviämään näiden kautta tuhlaamatta resurssejaan työvoimaan (Bargum & Sundström 2007). Monikuningattarisissa kolonioissa lisääntymisjaon onkin havaittu olevan epätasainen kuningattarien kesken: osa munii enemmän seksuaalimuotoja, osa enemmän työläisiä (Kümmerli & Keller 2006; Bargum & Sundström 2007).

Sukulaisuuden laskiessa omien koirasjälkeläisten muniminen voi pelastaa työläisten kelpoisuutta (Pamilo 1991; Keller 1995; Helanterä & Sundström 2007). Kuitenkin ainakin osalla superkoloniaalisista lajeista työläiset ovat tutkimusten perusteella lisääntymiskyvyttömiä (Keller 1995; Helanterä & Sundström 2007). Ne ovat siis jääneet loukkuun omaan rooliinsa pitkälle erikoistuneen fysiologiansa takia (Keller 1995). Vaikka sukulaisten suosiminen on vaikeaa, työläiset saattavat suosia hedelmällisintä kuningatarta kutikulan yhdisteiden perusteella, sillä eniten muniva on todennäköisesti myös niiden oma emo (Hannonen ym. 2002). Työläisillä on vaikutusvaltaa myös, jos ne kontrolloivat uusien kuningattarien adoptiota ja kolonian kuningatarmäärää (Boomsma ym. 2014). Niiden kelpoisuuden kannalta ei ole järkevää hoivata loputonta määrää kuningattaria, koska hoivan kustannukset kasvavat mutta hyödyt välttämättä eivät (Reeve 1989). Esimerkiksi karvaloviniskan monikuningattariset koloniat kasvattavat ja adoptoivat uusia kuningattaria vasta kun niitä tarvitaan lisää esimerkiksi vanhojen kuningattarien kuoltua (Brown & Keller 2002; Kümmerli ym. 2005).

Kuningattarien levittäytymistä koskeva kiista on superkoloniassa mahdollinen, vaikka ilmiötä ei ole muurahaisilla juuri tutkittu. Tällöin nuoria kuningattaria voidaan pitää jälkeläisinä ja muuta koloniaa emona (Backus 1993). Korkean sukulaisuuden vallitessa nuorien kuningattarien levittäytymisestä on etua emokolonian, eli muiden kuningattarien ja työläisten, sekä kuningattarien

omalle kokonaiskelpoisuudelle, sillä kilpailu vähenee (Roitberg & Mangel 1993) ja kuningattaren uusiin sisäriin voidaan investoida enemmän resursseja (Backus 1993). Superkoloniassa alhainen suhteellisen sukulaisuus (Keller 1995; Helanterä ym. 2009) kuitenkin heikentää sukulaiskilpailun välttämisen hyötyjä, mikä voi pahentaa kuningattarien itsekkyyttä ja levittäytymiskiistaa (Trivers 1974; Roitberg & Mangel 1993). Levittäytymisen riskit voivat ajaa uusia kuningattaria hylkäämään lentämisen ja jäämään koloniaan (Keller 1995; Seppä ym. 1995) tai siirtymään lyhyemmän matkan kuin työläisten ja emokuningattarien kannalta olisi optimaalista (Starrfelt & Kokko 2010). Kolonian kelpoisuuden kannalta on turhaa investoida loputtomasti satunnaisiin kuningattariin (Reeve 1989), joten työläiset mahdollisesti kasvattavat kuningattaria siinä toivossa, että nämä lopulta lentäisivät perustamaan omaa koloniaa (Chapuisat & Keller 1999) tai liittyäkseen toiseen superkoloniaan (van der Hammen ym. 2002). Vanhat kuningattaret voivat puolestaan eri tavoin estää nuoria kuningattaria jäämästä koloniaan kilpailemaan kanssaan (Fletcher & Blum 1981; Passera ym. 1995).

Muutamilla monikuningattarisilla ja superkoloniaalisilla muurahaislajeilla työläisten on havaittu tappavan osan kuningattarista (Fortelius ym. 1993; Passera ym. 1995; Sundström 1997; Keller & Ross 1999; Klobuchar & Deslippe 2002; Inoue ym. 2015), mikä voi olla niiden keino pelastaa epäsuoraa kelpoisuuttaan alhaisen sukulaisuuden takia (Inoue ym. 2015). Toisaalta tappaminen voi vähentää kuningattarien välistä kilpailua (Vargo & Passera 1991) tai olla ratkaisu mahdolliseen levittäytymiskiistaan (Clutton-Brock ym. 1998).

## 1.7 Tutkimuskysymykset ja hypoteesit

Pro gradu -tutkielmassani tutkin kuningattarien tappamista tupsukekomuurahaisella. Luonnossa tehtyjen havaintojen ja yhden pilottikokeen perusteella työläiset tappavat kuningattaria myös tällä lajilla, mutta käyttäytymistä ei ole aiemmin todistettu kokeellisesti. Tutkimuksessa tarkkailen luonnon superkoloniasta kerättyjen kuningattarien ja työläisten käyttäytymistä muurahaisten tarkkailuun suunnitelluissa koepesissä ja seuraan kuningattarien kuolleisuutta erilaisissa muurahaiskokoonpanoissa.

Tutkimuskysymykseni ovat:

1. Tappavatko työläiset kuningattaria?
2. Tapetaanko sekä nuoria että vanhoja kuningattaria?
3. Vaikuttavatko osapuolet läsnäolollaan tai poissaolollaan toistensa kuolleisuuteen?

#### 4. Vaikuttaako nuoren kuningattaren siipien pudottaminen riskiin tulla tapetuksi?

Hypoteesini ovat seuraavat:

1. Työläiset tappavat kuningattaria. Kuningattaret selviävät pidemmän ajan ilman työläisiä kuin niiden kanssa.
2. Työläiset saattavat tappaa sekä nuoria että vanhoja kuningattaria.
3. Vanhojen kuningattarien läsnäolo lisää nuorien tappamista. Tätä tukee ajatus siitä, että lisääntymisoikeuden jakaminen on epäedullista vanhoille kuningattarille ja toisaalta vanhojen kuningattarien jo ollessa pesässä työläisillä ei ole tarvetta uusille munijoille (Brown & Keller 2002).
4. Siipien pudottaminen olisi selvä merkki, ettei kuningatar aio lähteä lentämään pois pesästä. Jos kyseessä on levittäytymiseen liittyvä konflikti, tämä voi aiheuttaa työläisten aggressiivisuuden.

## 2. Aineisto ja menetelmät

### 2.1 Tutkimuslaji *Formica aquilonia*

Tupsukekomuurahainen kuuluu niin sanottuun aitojen kekomuurahaisten ryhmään, jonka tyyppilaji on punakekomuurahainen (*Formica rufa*). Kaikki *Formica rufa* -ryhmän lajit rakentavat kekoja, saalistavat selkärangattomia ja hoitavat kirvoja (Collingwood 1979; Stockan & Robinson 2016). Ne myös muistuttavat ulkonäöltään suuresti toisiaan ja osa lajeista voi risteytyä keskenään (Seifert ym. 2010). Tupsukekomuurahainen on ryhmälleen tyypillisesti väritykseltään punamusta, melko kookas ja hyvin aktiivinen muurahainen (Collingwood 1979). Kuningattaret ovat 8–10 mm pitkiä, hieman pienempiä kuin muilla sukulaisryhmän lajeilla (Collingwood 1979). Tupsukekomuurahaista tavataan itäisillä Alpeilla, Skotlannissa sekä havumetsävyöhykkeellä Norjasta Siperiaan ja se on Suomen ja koko Fennoskandian yleisin kekomuurahainen (Collingwood 1979; Punttila & Kilpeläinen 2009; Stockan & Robinson 2016). Laji suosii elinympäristönään puustoltaan vakiintuneita melko iäkkäitä kuusimetsiä ja metsänreunoja (Collingwood 1979; Punttila & Kilpeläinen 2009; Sorvari 2013).

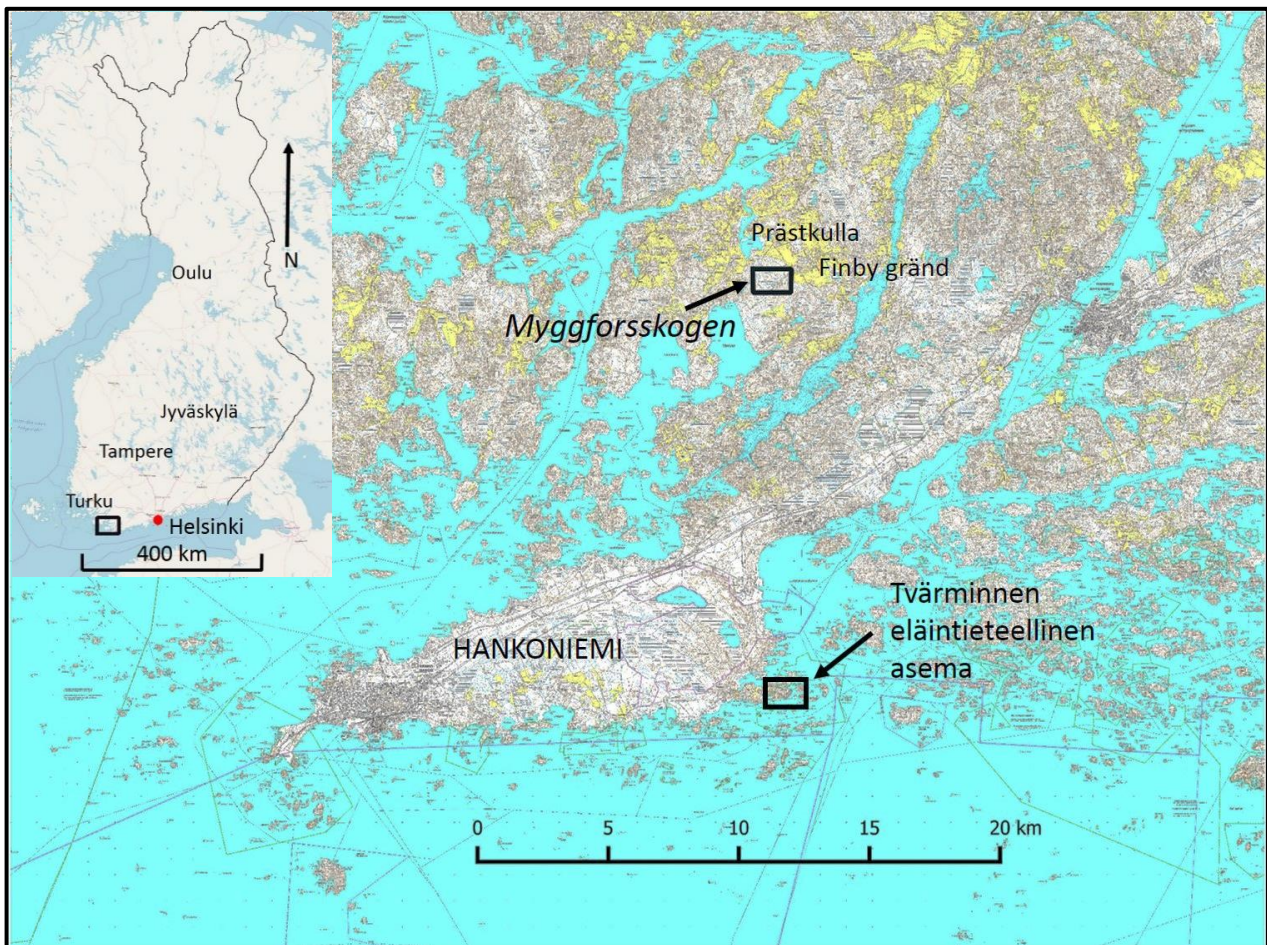


Tupsukekomuurahaisten superkolonia voi koostua sadoista keoista (Sorvari ym. 2008) ja yhdessä keossa voi olla satoja kuningattaria (Pamilo 1982). Laji tyypillisesti dominoi elinalueitaan vahvana kilpailijana ja se voi rakentaa isoja, jopa 7 m<sup>3</sup> kokoisia kekoja (Punntila & Kilpeläinen 2009), joista lähtee useita polkuja ympäröiviin kekoihin ja kirvojen hoitopuihin (Collingwood 1979). Superkoloniat muodostavat erillisiä populaatioita, jotka voivat olla 200 m – 50 km päässä toisistaan (Sundström ym. 2005). Kuningattarien välinen sukulaisuus superkoloniassa on käytännössä nolla eli saman keon kuningattaret eivät ole sen läheisempää sukua kuin kekojen välillä (Pamilo 1982; Schultner ym. 2016). Myös työläisten välinen sukulaisuus voi olla hyvin alhainen (Pamilo 1982) ja ne ovat tutkitusti lisääntymiskyvyttömiä (Helanterä & Sundström 2007). Joka vuosi valtaosa nuorista kuningattarista yrittää jäädä valmiiseen kekoon lisääntymään ja kekojen adoptoidessa uusia kuningattaria vanhat kuningattaret jakavat vanhan kekonsa uuden sukupolven kanssa, jonka kanssa sukulaisuus voi olla entistä alhaisempi (Pamilo 1982).

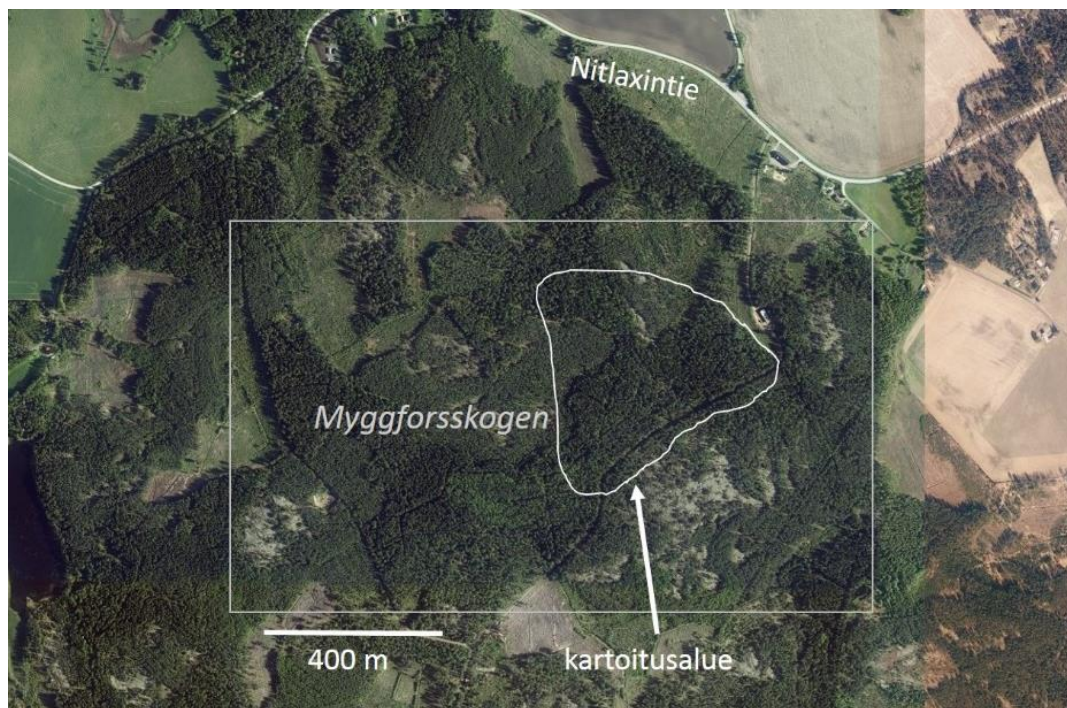
## 2.2 Superkolonian sijainti ja kekojen kartoittaminen

Tutkimukseni muurahaiset kerättiin Myggforsskogen-metsäalueelta Raaseporista (koordinaatit KKJ: 59,986 ° N 23,230 ° E) (ks. Kartta 1). Myggforsskogen on elinympäristönä tupsukekomuurahaisten tyypillisesti suosimaa, kivennäismaalla kasvavaa tuoretta kuusivaltaista kangasmetsää, jonka puusto on melko iäkästä, 60–100 vuotiasta (Maanmittauslaitos 2015) (ks. Kartta 2). Metsäojissa kasvavista rahkasammalista (*Sphagnum*) päätellen, alue on ollut aikoinaan soisempi ja kangasmetsä on kasvanut ojittamisen myötä. Tupsukekomuurahainen saattaa vallata tehokkaasti ojitettuja metsiä, kun kilpailevat soisempaa maastoa suosivat lajit katoavat alueelta (Punntila & Kilpeläinen 2009).

Suuri osa alueen keoista oli kartoitettu ja nimetty jo edellisvuosina. Tämä helpotti muurahaisten ja koteloiden löytämistä tutkimukseen. Kekojen kartoitusta jatkettiin GPS-laitteella muurahaisten keruun yhteydessä huhti-kesäkuussa 2018. Kesäkuussa käytin kekojen paikan merkitsemiseen Epicollect5 -puhelinsovellusta (<https://five.epicollect.net/>) kartan laatimista varten (Tulokset: Kartta 3). Sovelluksella voi tallentaa paitsi havaintopisteen koordinaatit, myös muita pisteen yksityiskohtia, esimerkiksi valokuvan. Otin kartan keoista valokuvat (Liite 1), merkitsin tiedon, jos olin käyttänyt keosta kuningattaria ja lisäksi arvion keon halkaisijasta. Laadin kartan QGIS-ohjelmistolla (<https://www.qgis.org/en/site/>).



**Kartta 1.** Muurahaisten keruupaikka ja kokeiden suorituspaikka. (kartassa käytetty: Open street map, Maanmittauslaitoksen peruskarttalehdet: Paituli: <https://avaa.tdata.fi/web/paituli/latauspalvelu>)



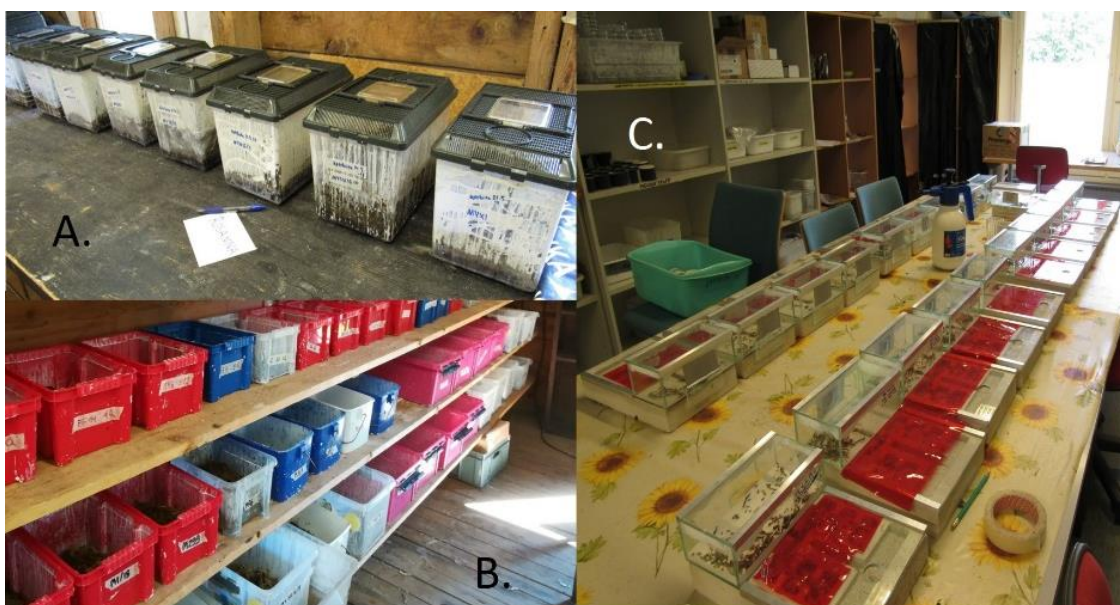
**Kartta 2.** Alue, jossa kartoitin kekoja (kartassa käytetty: MML: Paikkatietoikkuna: ortokuvat)



## 2.3 Vanhojen kuningattarien ja työläisten keruu

Keräsin ohjaajani Heikki Helanterä ja maisteriopiskelija Méliissa Peignierin avustuksella edellisvuosien vanhoja kuningattaria ja työläisiä 20. huhtikuuta, heti kun keot alkoivat aktivoitua talven jäljiltä ja niiden pintaan ilmestyi työläisiä. Vanhoja kuningattaria oli kerättävä alkukevällä, koska myöhemmin ne siirtyvät syvemmälle keon alaosiin, jolloin niiden löytäminen on vaikeaa (Pamilo 1982; Cherix ym. 1991). Otimme keosta kuningattaria, työläisiä ja pesämateriaalia vain, jos löytyi vähintään 10 kuningattarta. Kuningattaret oli helppoa erottaa työläisistä kiiltävän kutikulan ja isomman koon perusteella.

Vanhoja kuningattaria löytyi tarpeeksi 15 keosta. Kuningattaret työläisineen kuljetettiin Tvärminnen eläintieteelliselle asemalle ulkovajaan, joka pidettiin ympäri vuorokauden huoneenlämpöisenä (noin + 20 °C). Kustakin keosta kerätyt muurahaiset laitettiin säilytykseen omaan pesälaatikkoonsa (Kuva 1). Noin 40 x 30 x 20 cm muovilaatikkoon kaadettiin pesämateriaali muurahaisineen ja mukaan lisättiin puutarhaturvetta ja metsästä kerättyä rahkasammalta pidättämään kosteutta. Laatikkoon lisättiin ohut tiililevy, jonka alle kuningattaret pääsivät hyvin suojaan ja, josta ne oli jatkossa helppoa poimia kokeisiin. Karkaamisen estämiseksi pesälaatikoiden sisäseinustat oli käsitelty Fluonilla, eli veteen liuotetulla polytetrafluoroetyleenijauheella (Fluon ® PTFE: <https://www.agcce.com/fluon-ptfe/>), joka on muurahaisille vaaratonta mutta tehokasta liukastetta hankaloittamaan kiipeilyä (Collingwood 1979).



**Kuva 1.** Pesät, joissa pidin muurahaisia:

**A.** Koteloiden ja työläisten pesälaatikoita, **B.** Vanhojen kuningattarien ja työläisten pesälaatikoita, **C.** Käyttätymiskoepesiä

Valmistin muurahaisille niiden pitämisessä hyväksi havaittua ruokaa Bhatkarin & Whitcombin (1970) julkaisuun perustuvalla ohjeella: 5 g agar- jauhetta kiehautettiin 250 ml:ssa vettä, sitten lisättiin toiset 250 ml vettä, hunajaa ja yksi kananmuna (tässä seoksessa ei ollut vitamiinitablettia). Ruokaseos laitettiin ruiskuihin, joista annostelin sitä päivittäin pesälaatikoihin ja koepesiin. Pesälaatikoita kostutettiin päivittäin ruiskuttamalla vettä pesämateriaalin päälle. Koepesiä kostutin aamuin illoin kaatamalla hieman vettä pesän kostutusaltaaseen, josta kosteus pääsi leviämään koko betoniosaan (ks. Kuva 3.).

## 2.4 Koteloiden keruu ja nuoret kuningattaret

Tarvitsin käyttäytymiskokeisiin nuoria siivellisiä kuningattaria. Halusin parittelustatuksen ja iän olevan kaikilla samanlainen satunnaistekijöiden määrän minimoimiseksi, jolloin paras vaihtoehto oli kerätä koteloita maastosta tarkkailuun, odottaa kuningattarien kuoriutumista ja poimia ne kokeisiin mahdollisimman pian kuoriutumisen jälkeen. Kokeiden nuoret kuningattaret olivat näin kaikki maksimissaan vuorokauden ikäisiä, siivellisiä ja oletettavasti parittelemattomia. Tarkistin kuningattarien parittelun kokeiden jälkeen.

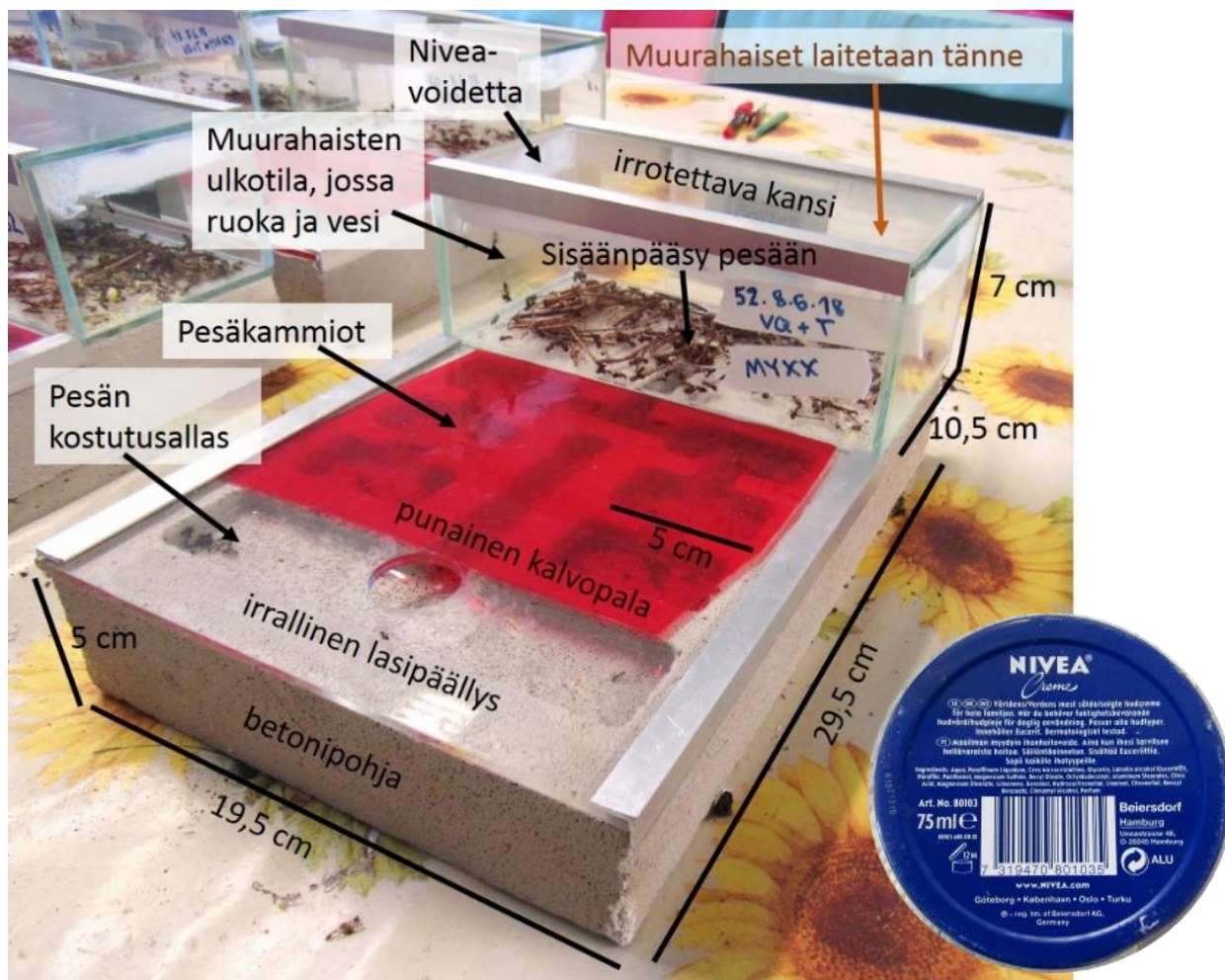
Tarkistin ohjaajani Sanja Hakalan kanssa kekojen kotelotilanteen ensimmäisen kerran 14. toukokuuta. Kävin keräämässä lisää koteloita toukokuun aikana vielä kahdesti. Kuljetin kotelot Tvärminneen työläisten ja pesämateriaalin kanssa kypsymään samaan ulkovajaan, missä säilytettiin aiemmin kerättyjä muurahaisia. Niiden pesälaatikoissa oli ritiläkannet päällä varmuuden vuoksi kuningattarien karkaamisen estämiseksi (Kuva 1). Koteloiden säilyttämisessä oli riski, että suuri osa hajoaisi, kun pesämateriaalia siirrellään kuningattaria etsiessä. Hajoamisen välttämiseksi asettelin kotelot pesälaatikkoon niin, että seuloin ne ensin erilleen pesämateriaalista, tein niille pesämateriaalista taskun ja kokosin ne yhteen kasaan tiililevyn alle. Näin kotelot sotkeutuivat pesäneulasiin, tikkuihin ja turpeeseen mahdollisimman vähän. Työläiset myös pitivät kotelot levyn alla, jolloin kuoriutuneiden kuningattarien etsiminen helpottui (Kuva 5).

Sain tarpeeksi kuningattaria vain viidestä keosta: kolmesta (MYSH1610, MYSH163 ja MYSH16) kuoriutui yhteensä satoja kuningattaria, kahdesta muusta (SANJA1, MY2HH16) muutamia kymmeniä. Kuningattarien kanssa kuoriutui kaikissa koteloiden pesälaatikoissa jatkuvasti myös koiraita (Kuva 2). Otin koiraat aina pois pesistä estääkseni parittelun kuningattarien kanssa.



## 2.5 Käyttäytymiskokeet – Tappavatko työläiset kuningattaria?










Tutkimukseni pääkysymykset olivat siis, tappavatko työläiset kuningattaria ja jos tappavat, eroavatko nuorten ja vanhojen tappamismäärät toisistaan ja vaikuttaako asiaan, jos joku osapuoli on poissa pesästä. Näiden selvittämiseksi yhdistelin eri kokoonpanoiksi nuoria ja vanhoja kuningattaria sekä työläisiä, tarkkailin niiden käyttäytymistä ja seurasin kuningattarien kuolleisuutta erityisissä muurahaisten tarkkailuun soveltuvissa koepesissä (Kuva 3).



**Kuva 3.** Muurahaisten tarkkailuun suunniteltu koepesä. Sivelin Nivea -voidetta ohuen kerroksen ulkoilukammion sisäreunoihin estämään karkaamista, sillä voide on tahmeaa ja muurahaiset inhoavat sen hajua. Laitoin punaisen kalvon pesäkammioiden peitoksi. Muurahaiset eivät näe valon punaista aallonpituutta (Aksoy & Camlitepe 2018), jolloin ne eivät häiriintyneet tarkkailustani vaan luulivat pesän olevan täysin pimeä.

Kokeissani oli neljä erilaista käsittelyä (Kuva 4), jotka suunnittelin yhdessä ohjaajieni kanssa. Sekä nuoret (NQ) että vanhat kuningattaret (VQ) olivat tarkkailussa keskenään ilman työläisiä (NQVQ), työläisten kanssa (NQT/VQT) sekä kaikkien kolmen osapuolen ollessa yhdessä (NQVQT). Vertaamalla muita käsittelyjä NQVQ-käsittelyyn saisin selvitettyä selviävätkö kuningattaret paremmin ilman työläisiä vai niiden kanssa. Vertaamalla käsittelyjä VQT ja NQT käsittelyyn NQVQT saisin puolestaan selville vaikuttaako toisen kuningatarsukupolven poissa- tai läsnäolo toisen kuolleisuuteen.



	NUORI kuningatar NQ	VANHA kuningatar VQ	TYÖLÄINEN T
<b>1. NQVQT</b> (NUORET + VANHAT + TYÖLÄISET)	 10	 10	 200
<b>2. NQT</b> (NUORET + TYÖLÄISET)	 10		 200
<b>3. VQT</b> (VANHAT + TYÖLÄISET)		 10	 200
<b>4. NQVQ</b> (NUORET + VANHAT)	 10	 10	

**Kuva 4.** Neljä eri kokoonpanoa/käsittelyä. Sekä nuoret että vanhat kuningattaret olivat tarkkailussa keskenään ilman työläisiä (NQVQ), työläisten kanssa (NQT/VQT) sekä kaikkien kolmen osapuolen ollessa yhdessä (NQVQT). Kuvaan on merkitty yksilömäärä per koesä.

Sain vanhoja ja nuoria kuningattaria eri keoista. Siispä minun oli yhdistettävä NQVQ- ja NQVQT- käsittelyihin eri kekojen nuoret ja vanhat kuningattaret. NQVQT-käsittelyssä työläiset olivat nuorien kuningattarien kanssa samasta luonnonkeosta eli työläisten piti ”adoptoida” vanhat kuningattaret. Toinen vaikuttava tekijä oli, että nuoria kuningattaria kuoriutui lopulta vain viidestä keosta käyttöni ja erittäin paljon kolmesta keosta. Siksi toistin käsittelyitä muutaman kerran samoilla nuorten keoilla (Taulukko 1). NQVQT-käsittelyn toistoissa käytin kuitenkin aina vanhoja kuningattaria eri keosta. VQT- toistoja oli 13, kukin eri keolla. NQT- ja VQT-käsittelyissä työläiset ja kuningattaret olivat aina samasta luonnonkeosta.

**Taulukko 1.** Toistojen lukumäärä samalla nuorien kuningattarien keolla käsittelyissä, joissa nuoret kuningattaret olivat mukana.

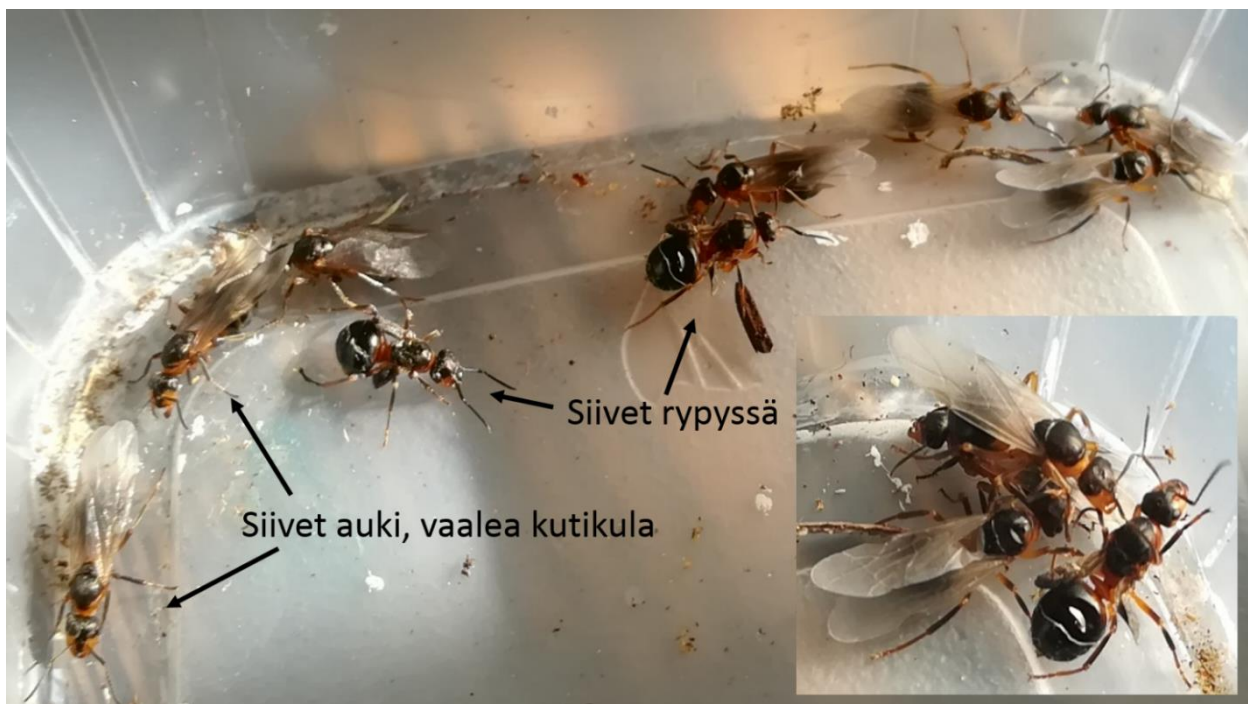
<b>Keko</b>	<b>NQT</b>	<b>NQVQT</b>	<b>NQVQ</b>
MYSH1610	4	4	3
MYSH16	3	2	4
MYSH163	2	2	2
SANJA1	3	4	2
MY2HH16	1	1	1
yhteensä	13	13	12

Otin työläisiä ja kuningattaria pesälaatikoistaan rasioihin kuljetettavaksi lasikantisiin koepesiin. 200 työläisen laskeminen oli niin aikaa vievää, että laskin määrän tarkasti vain kerran yhteen rasiaan ja muilla kerroilla arvioin sopivan määrän saman rasian avulla. Otin joka koepesään mukaan kaikenkokoisia työläisiä. Koteloiden ensiläpikäynnillä löytyi jokunen vastakuoriutunut kuningatar, jotka poimin heti kokeisiin. Muuten kuningattaria alkoi kuoriutua päivän parin päästä koteloiden keruusta, mistä eteenpäin tarkastin koteloiden pesälaatikot huolellisesti joka päivä aina koepesien seuraamisten välissä (Kuva 5). Kelpuutin kokeisiin nuoria kuningattaria, jotka liikkuvat vikkellästi ja joiden siivet olivat kokonaan avautuneet, mutta kutikula oli vielä vaalea (Kuva 6). Vanhat kuningattaret otin pesälaatikostaan purkkiin erilleen työläisistä ja merkitsin niille taka- ja keskiruumiiseen jäljet maalikynällä (Kuva 7), jotta erottaisin ne nuorista, kun nämä pudottavat siipensä ja niiden kutikula tummuu. Pidin kuningatarta kiinni jaloista ja painoin maalijäljet varovasti kutikulaan. Laiton maalia kahteen paikkaan, koska oletin työläisten puhdistavan sitä.





**Kuva 5.** Ensin nostin tiililevyn pois pesälaatikosta ja poimin heti näkemäni kuningattaret talteen. Sitten nostin koteloita ja pesämateriaalia erilliseen rasiaan ja kävin ne läpi huolellisesti. Seuloin kotelot erilleen ja laitoin ne pesän läpikäytyäni takaisin pesälaatikkoon yhdessä kasassa.



**Kuva 6.** Alle vuorokauden ikäisiä vastalöydettyjä kuningattaria. Omien havaintojeni perusteella vastakuoriutuneet kuningattaret liikkuvat tahmeasti ja niiden siivet ovat rypyssä, kun muutaman tunnin ikäiset ovat vilkkaampia ja siivet ovat avautuneet.



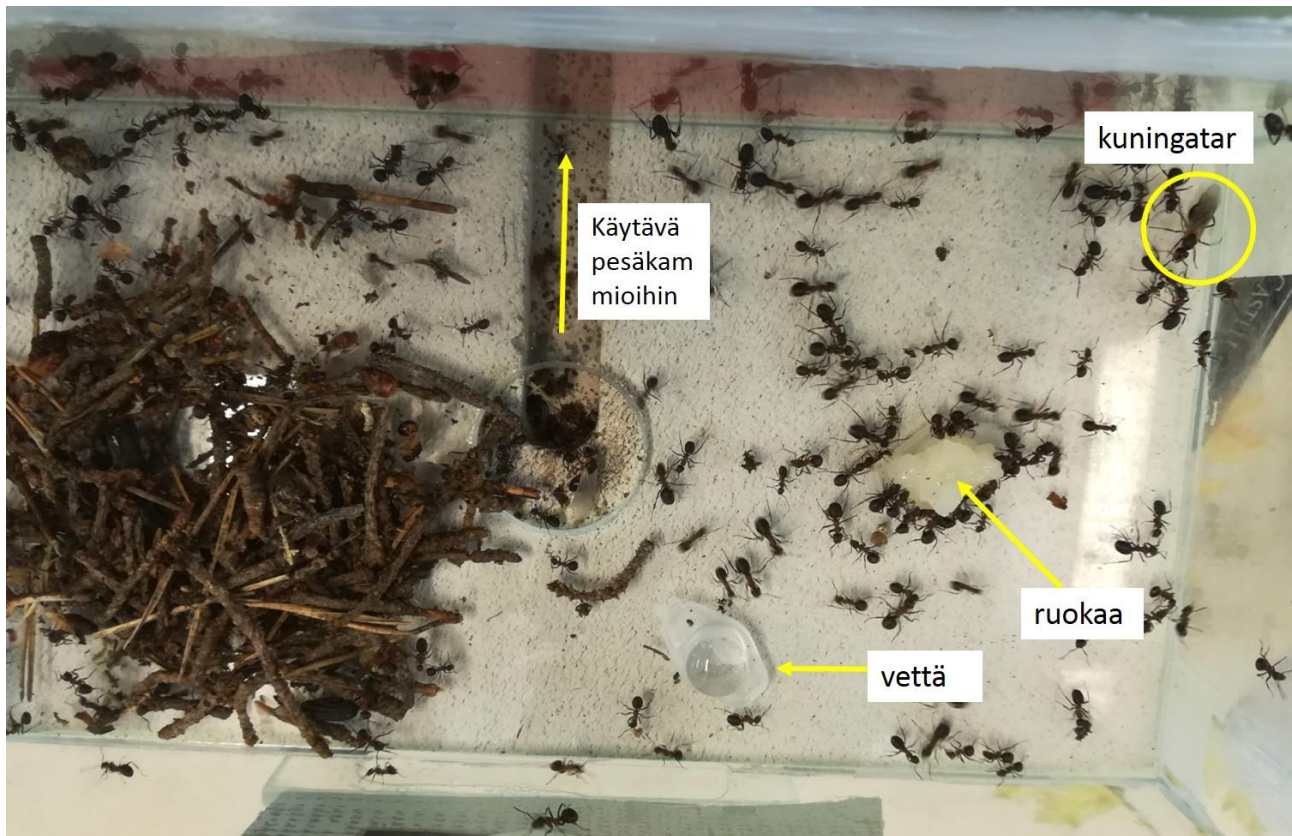
**Kuva 7.** Merkittyjä vanhoja kuningattaria odottamassa siirtoa kokeeseen. Maali pääsi kuivumaan hyvin, kun kuningattaret olivat purkissa hetken erillään työläisistä. Merkinnot säilyivät näin koko koeajan, vaikka työläiset yrittivät alussa puhdistaa niitä.

Laitoin koepesään aina (käsittelystä riippuen) ensin vanhat kuningattaret, sitten nuoret kuningattaret ja perään työläiset. Lisäsin myös jokaiseen koepesään noin ruokalusikallisen työläisten omaa pesämateriaalia, myös NQVQ-käsittelyyn nuorten kuningattarien pesästä. Ajattelin pesän tutun hajun lievittävän stressiä ja, että työläisillä olisi jotakin kanniskeltavaa niin kuin luonnossakin. Lisäsin ruuan ja veden heti muurahaisten ja pesämateriaalin jälkeen (Kuva 8).

Tarkkailin jokaista koepesää muutaman minuutin aamuin illoin seitsemän päivän ajan ja samalla laskin kuinka monta vanhaa ja nuorta kuningattarta oli elossa ja kuinka monta kuollut. Kuvasin valokuvia ja videoita aggressiivisista tilanteista. Näin pesän sisälle hyvin punaisen kalvon läpi, kun käytin apuna puhelimeni taskulamppua, mikä ei näyttänyt häiritsevän muurahaisia ollenkaan. Ruokin ja kostutin koepesiä aina tarkkailun yhteydessä. Jos kuningattarien laskeminen oli hankalaa, lisäsin välissä pesään ruokaa, jolloin kannen avaaminen lisäsi hetkellisesti liikehdintää pesässä ja kuningattaretkin siirtyivät muutaman askeleen ja minun oli helpompaa laskea ja todeta ne eläviksi. Muuten en häirinnyt koepesiä.

Kokeita oli käynnissä 14.5. – 15.6.2018 välisenä aikana, sillä aloitin osan VQT-käsittelyistä jo ennen kuin sain nuoria kuningattaria.





**Kuva 8.** Kuva ulkokammioista heti sen jälkeen, kun muurahaiset on siirretty koepesään.

## 2.6 Lajin määrittäminen ja kuningattarien parittelun tarkistus

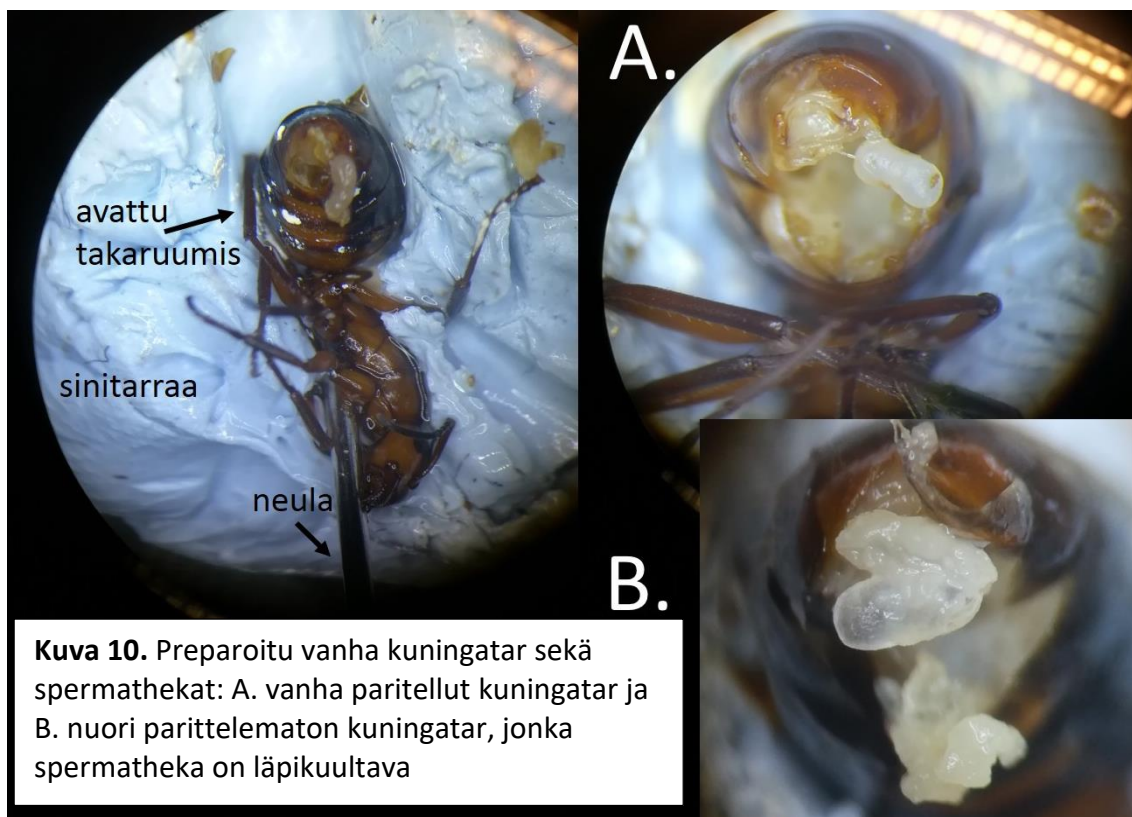
Koeseurannan päätteeksi otin säilöttäväksi 95 % etanoliin lähes joka koepesästä (riippuen käsittelystä) 10–15 työläistä lajinmäärittystä varten sekä muutaman eloon jääneen vanhan kuningattaren ja kaikki eloon jääneet nuoret kuningattaret parittelun tarkistusta varten.

Vepsäläisen ja Savolaisen (2016) määrittyskaavan mukaan *Formica rufa* -ryhmän lajien erottaminen toisistaan perustuu muun muassa keskiruumiin ja pään karvoitukseen. Tupsukekomuurahaisen pitäisi olla keskiruumiista ja päästä melko karvainen, mutta täysin karvattomiakin työläisiä on havaittu. Päätin määrittää lajin työläisten pään takareunan karvojen lukumäärän perusteella (Kuva 9.). Tupsukekomuurahaisella keon keskiarvo on Vepsäläisen ja Savolaisen (2016) mukaan 4–10 karvaa ja keosta tulisi tarkistaa vähintään viisi työläistä. Collingwoodin (1979) mukaan vähintään 60 %:lla työläisistä pitäisi esiintyä takaraivon karvoja.



**Kuva 9.** Työläisen takaraivon karvoja.

Spermatheka on sperman varastointiin ja munasolujen hedelmöittämiseen erikoistunut lisääntymiselin mm. pistiaäisnaarailla (Pascini & Martins 2017). Muurahaiskuningattaren paritteluhistoria voidaan selvittää tarkistamalla onko spermathekassa spermaa parittelun jäljiltä (Fortelius ym. 1993). Tarkistin eloon jääneet nuoret kuningattaret ja verrokkina muutaman vanhan (Kuva 10.). En preparoinut kokeissa kuolleita yksilöitä, koska ne olivat pahoin kuivuneita ja työläisten paloittelleita.



**Kuva 10.** Preparoitu vanha kuningatar sekä spermathekat: A. vanha paritellut kuningatar ja B. nuori parittelematon kuningatar, jonka spermatheka on läpikuultava

## 2.7 Tilastolliset menetelmät

Analysoin tilastollisesti eroja kuningattarien selviytymisessä eri käsittelyiden välillä käyttäen R-ohjelmistoa (<https://www.r-project.org/>). Käyttämäni tilastollinen malli oli coxin regressio- eli verrannollisten riskien malli, jolla voidaan tutkia, miten erilaiset muuttujat vaikuttavat tietyn tapahtuman kuten kuoleman ajankohtaan (jolloin puhutaan selviytymisanalyysistä) (StatsDirect 2019). Malli kertoo aineiston perusteella, miten suurella todennäköisyydellä yksilö on kuollut tiettyä seurantajakson ajankohtana, kun tietty muuttuja vaikuttaa jatkuvasti sen selviytymistodennäköisyyteen (Moore 2016). Toisaalta mallia voidaan lukea myös, miten suuri osa populaatiosta on todennäköisesti elossa tietyllä ajanhetkellä, kun tietty muuttuja vaikuttaa jatkuvasti populaation yksilöiden selviytymistodennäköisyyteen (Moore 2016).

Oman analyysini tapauksessa tutkimusyksikkö oli muurahaiskuningatar, joka oli kunakin tarkkailuhetkellä (time) elossa (censored=0) tai kuollut (censored=1) ja perus-selviytymisanalyysi kertoi, miten suuri osa kuningattarista oli hengissä tietyllä ajanhetkellä jatkuvan muuttujan eli koekäsittelyn (treatment=NQVQ/ NQVQT/ NQT/ VQT) vaikuttaessa kuningattaren selviytymistodennäköisyyteen. Analysoin parittaisella vertailulla, olivatko eri käsittelyiden selviytymiskäyrät merkitsevästi erilaisia, kun mukaan lisättiin satunnaismuuttujat työläisten luonnonpesä (Tnest) sekä koepestä (expnest). Satunnaismuuttujia sisältävän selviytymisanalyysin sain mallinnettua R-ohjelmiston coxme -paketilla (Therneau 2018). Ohjelmistoon syötetyt koodit ovat Liitteessä 2.

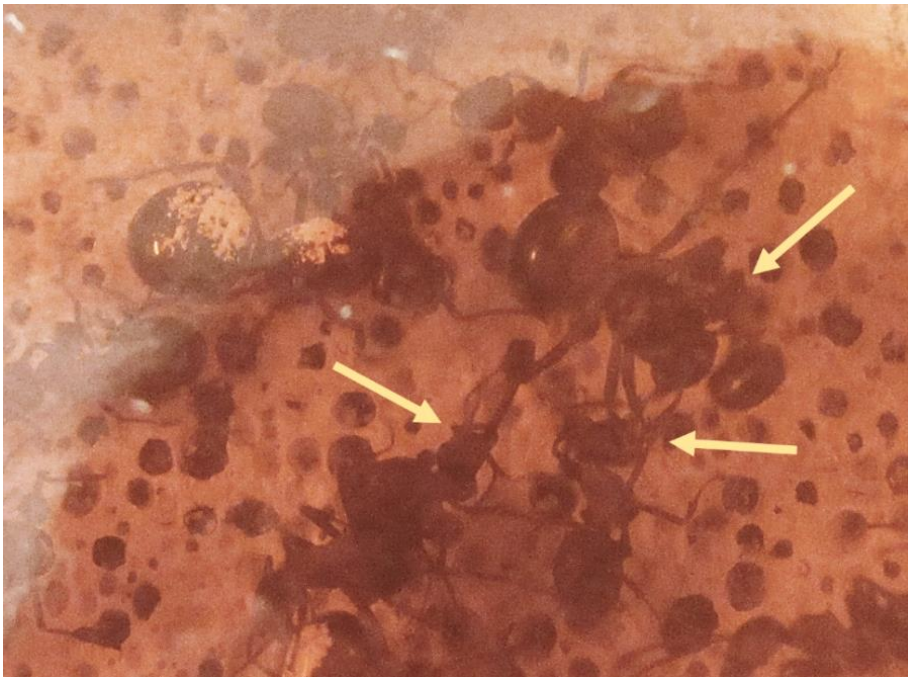


### 3. Tulokset

#### 3.1 Käyttäytymiskokeet ja kuningattarien selviytyminen

##### 3.1.1 Havaittu aggressiivisuus

Työläiset olivat aggressiivisia nuorille kuningattarille, mutta hyväksyivät vanhat kuningattaret toisesta keosta ongelmitta tuntosarvilla haistelun jälkeen. Vanhat kuningattaret saivat olla rauhassa ja työläiset syöttivät niitä. Kaikissa koepesissä vaikutti aluksi siltä, että työläiset alkoivat syöttää myös nuoria kuningattaria normaalisti, mutta myöhemmin käyttäytyminen niitä kohtaan muuttui. Kuningattarien päälle kiivettiin, niitä piiritettiin, purtiin ja raahattiin 3–6 työläisen voimin ja ehdin muutaman kerran näkemään, kun kuningatar kuoli tämän seurauksena. Havaitsin rajua joukkopuremista 11 kertaa ja muutaman kerran olin silminnäkijänä vasta, kun kuningatar oli jo tapettu ja työläiset piirittivät sen ruumista. Työläiset purivat sekä siivekkäitä että siivettämiä kuningattaria. Kaikki tappamiseen viittaava tapahtui pesäkammioissa ja myöhemmin työläiset kantoivat kuolleet ulkoilutilaan. Kuvat 11–15 kertovat havainnoistani. Yhdessä NQVQT-toistossa vanhat kuningattaret munivat koepesään, kun kaikki nuoret olivat kuolleet. Kuningattarien kesken en havainnut aggressiivista käyttäytymistä. Nuoret ja vanhat haistelivat toisiaan ja joskus myös syöttivät toisiaan NQVQ-käsittelyssä, jossa niillä ei ollut työläisiä.



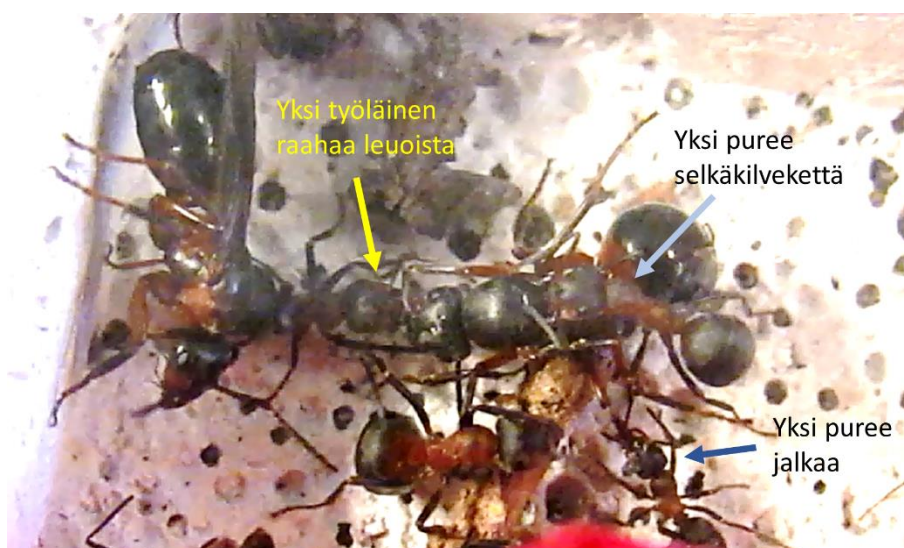
**Kuva 11.** Kaksi työläistä puree siivetöntä nuorta kuningattarta jaloista, kolmas puree keskiruumiista. Vanha kuningatar on vieressä, mutta ei osallistu tapahtumaan.



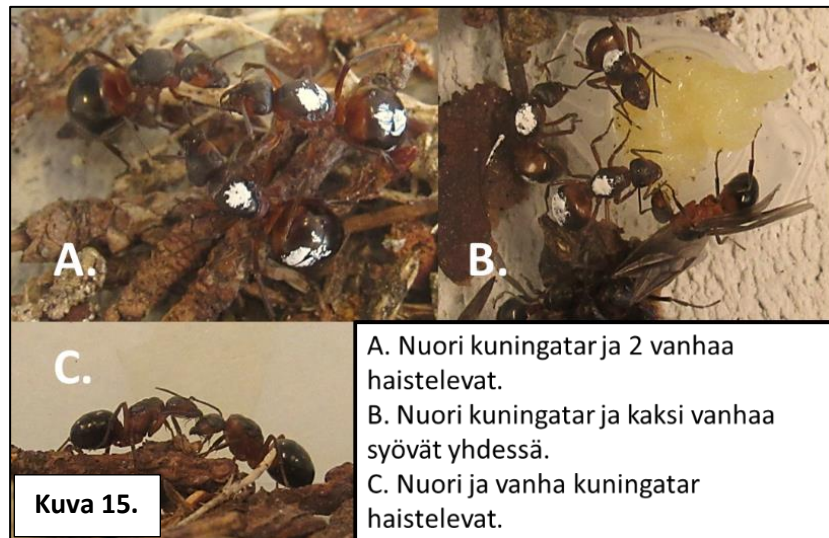
**Kuva 12.** Yksi työläinen siivellisen nuoren kuningattaren selässä näykkimässä siipiä, toinen vieressä leuat auki.



**Kuva 13.** Työläiset piirittämässä yhtä nuorta kuningatarta, yksi puree takaruumista, toinen jalkaa.

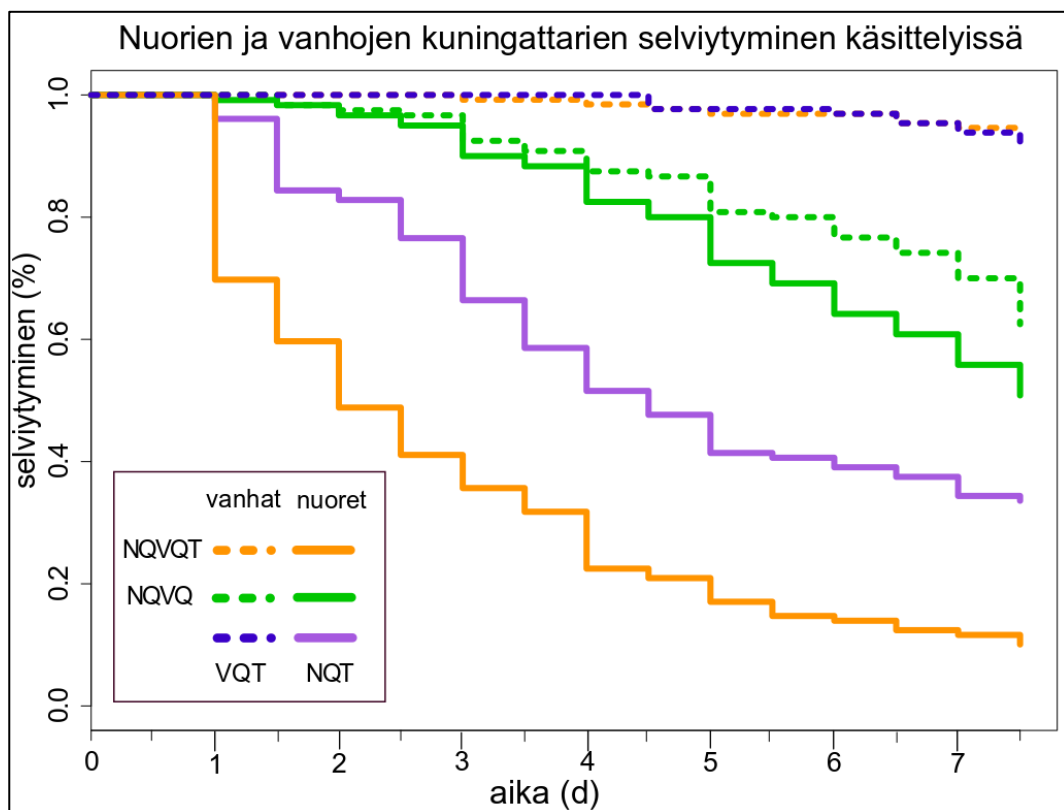


**Kuva 14.** Kolme työläistä tappaa nuorta kuningatarta, yksi raahaa ja muut purevat.



### 3.1.2 Kuningattarien selviytyminen

Kuvassa 16 näkyy, miten nuoret ja vanhat kuningattaret selviytyivät eri käsittelyissä ja taulukossa 2 selviytymiskäyrien tilastollisen vertailun tulokset.



**Kuva 16.** Nuorien ja vanhojen kuningattarien keskimääräiset selviytymiskäyrät 3 eri käsittelyssä (vanhoilla VQT, NQVQT, NQVQ; nuorilla NQT, NQVQT, NQVQ). Vanhojen selviytymiskäyrät ovat katkoviivoja, nuorten yhtenäisiä viivoja. Kullakin käsittelyllä on oma värinsä. NQVQ (vihreä) ja NQVQT (oranssi) käsittelyissä vanhat ja nuoret kuningattaret olivat samoissa koepesissä.



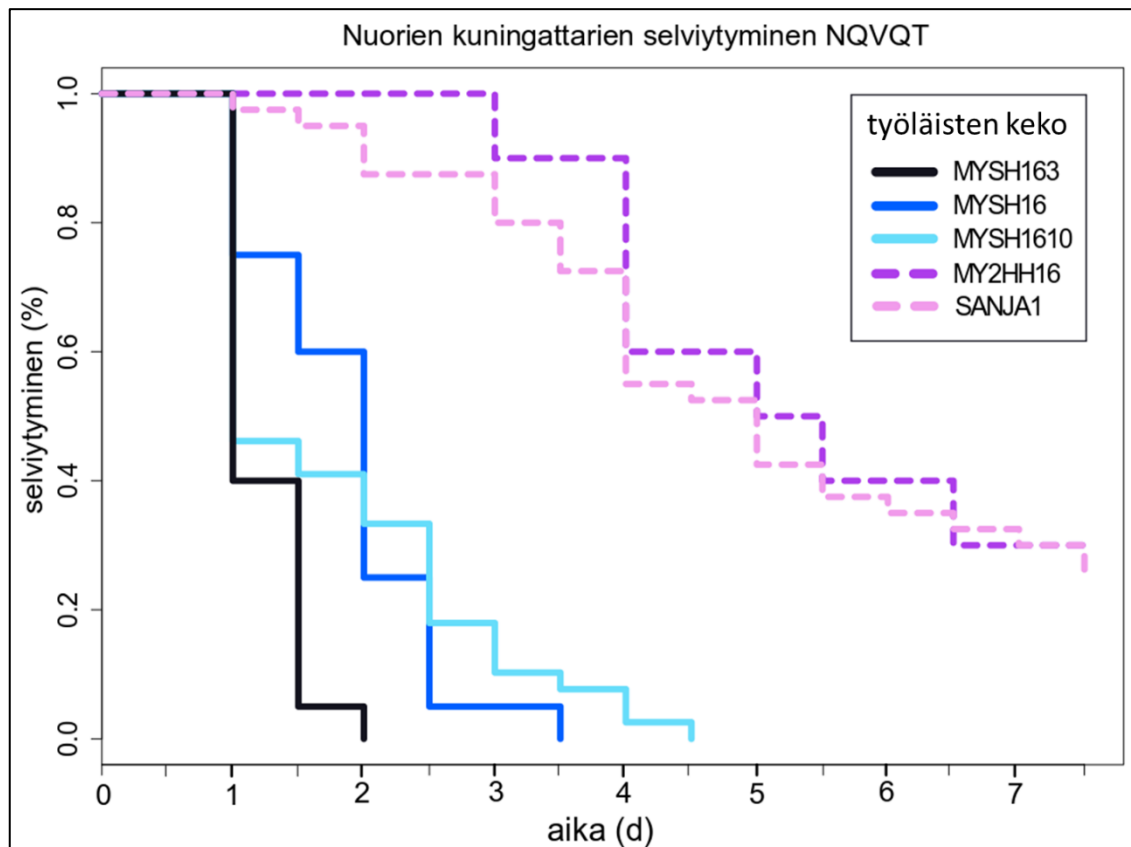
Parittainen vertailu		Estimaatti	Keskivirhe	z arvo	p- arvo	Merkitsevyys
NQT nuoret	NQVQT nuoret	-1,9904	0,4762	-4,180	< 0,001	***
NQT nuoret	NQVQ nuoret	1,0505	0,4923	2,134	0,195	
NQVQ nuoret	NQVQT nuoret	-3,0409	0,5031	-6,004	< 0,001	***
NQVQ nuoret	NQVQ vanhat	0,3503	0,2016	1,738	0,41	
NQVQT nuoret	NQVQT vanhat	6,0790	0,4194	14,495	< 0,001	***
NQT nuoret	VQT vanhat	3,5569	0,7159	4,969	< 0,001	***
NQVQ vanhat	VQT vanhat	2,1561	0,7285	2,959	0,022	*
NQVQT vanhat	VQT vanhat	-0,5317	0,7983	-0,666	0,977	

**Taulukko 2.**  
Selviytymiskäyrien tilastollisen vertailun tulokset. Nollahypoteesi on, ettei käyrillä ole eroa ja p-arvolla <0,05 nollahypoteesi kumoutuu eli ero on merkitsevä. Merkitsevät erot on merkitty \*(<0,05) ja \*\*\*(<0,001) eli vahvasti merkitsevä. Käsittelyt on korostettu vastaavan käyrän värillä (Kuva 16.) tarkastelun helpottamiseksi.

Työläisten kanssa nuoret kuningattaret selvisivät merkitsevästi ( $p < 0,001$ ) huonommin, kuin vanhat (ks. Taulukko 2. Vertailut: NQT(nuoret) – VQT(vanhat); NQVQT(nuoret) – NQVQT(vanhat); NQVQ(nuoret) – NQVQT(nuoret)). Nuorien kuolleisuus myös kasvoi merkitsevästi, kun työläisten lisäksi pesässä oli vanhoja kuningattaria (ks. Kuva 16. ja Taulukko 2. Vertailu: NQT(nuoret) – NQVQT(nuoret),  $p < 0,001$ ). Kuvan 16. mukaan NQT ja nuorien NQVQ käyrillä on eroa, mutta se ei ole tilastollisesti merkitsevä, kun satunnaismuuttujat työläisten keko ja koesä on huomioitu ( $p = 0,195$ ). Tämä tarkoittaa, että nuorien kuningattarien selviytyminen olisi yhtä huonoa pelkkien vanhojen kuningattarien ja pelkkien työläisten kanssa. Havaintojeni perusteella selviytyminen pelkkien työläisten kanssa oli kuitenkin huonompaa, koska vanhat kuningattaret eivät olleet aggressiivisia nuorille. Kaiken kaikkiaan tulosten perusteella nuoret selvisivät parhaiten vanhojen kanssa ilman työläisiä ja heikoimmin, kun kaikki kolme osapuolta olivat yhdessä (ks. Kuva 16.).

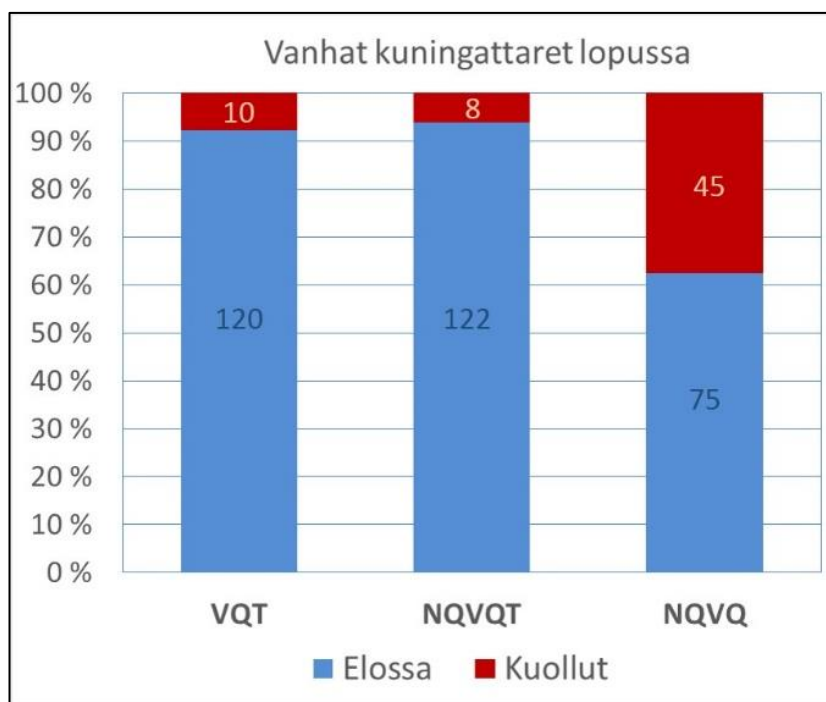
Nuorien kuningattarien läsnäolo ei vaikuttanut vanhojen kuningattarien selviytymiseen, sillä niiden kuolleisuus oli yhtä alhaista VQT ja NQVQT käsittelyissä ( $p = 0,977$ ). Siinä missä nuoret kärsivät työläisten kanssa, vanhat kuningattaret kärsivät ilman työläisiä (ks. Taulukko 2. vertailu NQVQ(vanhat) ja VQT(vanhat),  $p = 0,022$ ), mikä vahvistaa, että työläiset pitivät niistä huolta. Nuoret selvisivät hieman heikommin kuin vanhat NQVQ käsittelyssä, mutta ero on tilastollisesti merkityksetön ( $p = 0,41$ ).

Käsittelyssä NQVQT keot jakautuvat tappamisnopeuden perusteella kahteen ryhmään (Kuva 17.). MYSH16, MYSH163 ja MYSH1610 keoissa käyttäytyminen muuttui nopeasti aggressiiviseksi ja työläiset tappoivat kaikki nuoret kuningattarensa keskimäärin tarkkailujakson puoleen väliin mennessä, kun MY2HH16 ja SANJA1 kekojen nuorista kuningattarista suurempi osa oli hengissä vielä kokeiden lopussa (Kuva 17.).

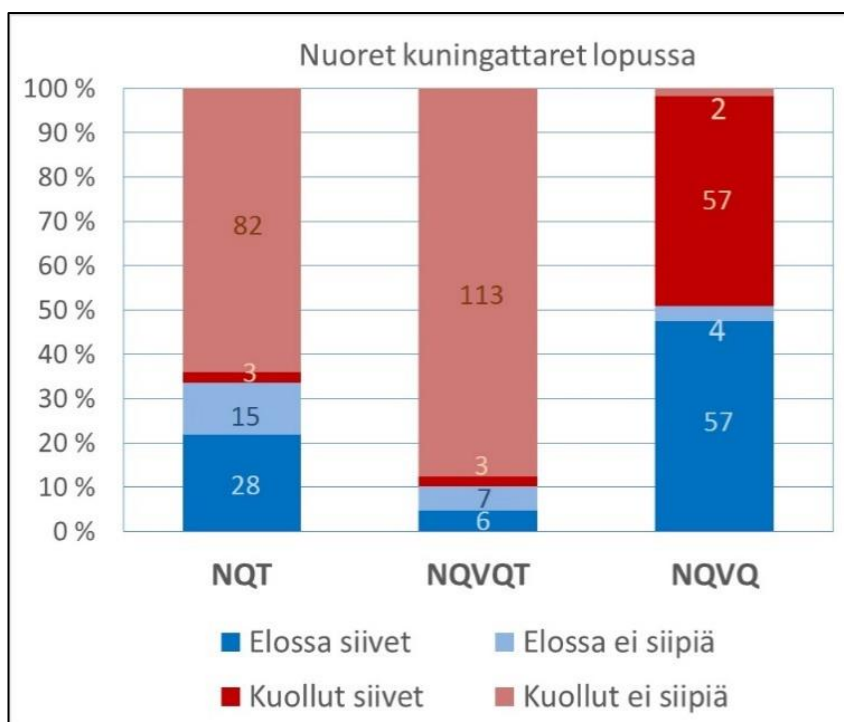


**Kuva 17.** Nuorien kuningattarien selviytyminen käsittelyssä NQVQT. Eri kekojen työläiset jakautuvat aggressiivisuudeltaan kahteen ryhmään.  
Vertailut: MY2HH16 – MYSH163,  $p=0,00327$ ; MY2HH16 – MYSH16,  $p=0,05172$ ; MY2HH16 – MYSH1610,  $p=0,00972$ ; SANJA1 – MYSH163,  $p<0,001$ ; SANJA1 – MYSH16,  $p=0,00756$ ; SANJA1 – MYSH1610,  $p<0,001$ .

Kuvista 18 ja 19 näkyy yhteenvetona, kuinka monta prosenttia kussakin käsittelyssä jäi eloon ja kuoli kuningattaria. Pylväsdiagrammeihin on merkitty myös yksilömäärät ja nuoret kuningattaret on jaoteltu siivellisiin ja siivettömiin yksilöihin. Työläisten kanssa lähes kaikki kuolleet nuoret kuningattaret olivat siivettömiä. Useimpien kuolleiden kohdalla on kuitenkin mahdotonta sanoa, olivatko kuningattaret pudottaneet siivet itse vai olivatko työläiset pureet ne irti ennen tappamista. Ilman työläisiä, NQVQ-käsittelyssä, suurin osa nuorista piti siipensä koko tarkkailujakson ajan.



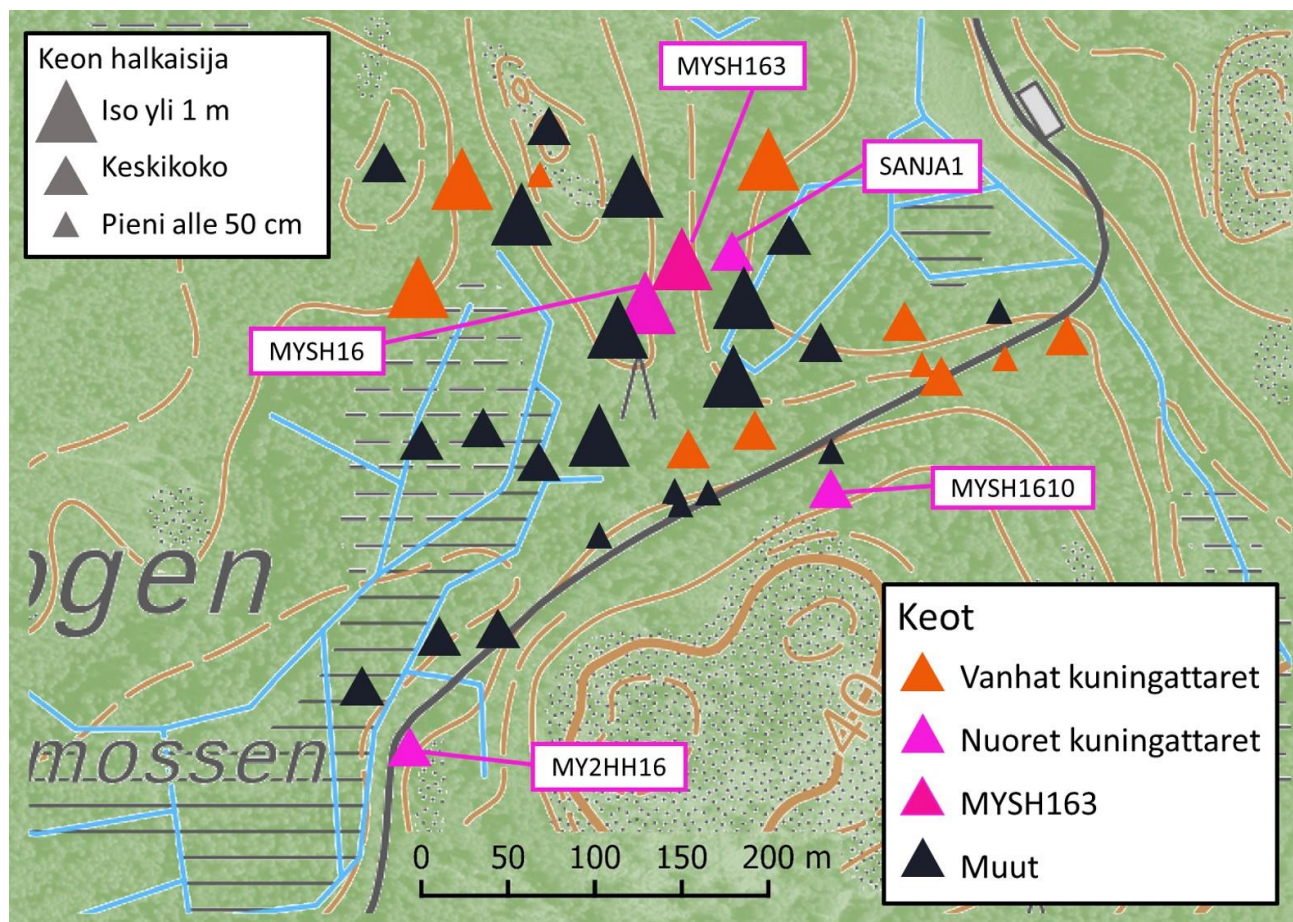
**Kuva 18.** Kokeissa kuolleiden ja elävien vanhojen kuningattarien osuudet sekä yksilömäärät kolmessa käsittelyssä.



**Kuva 19.** Kokeissa kuolleiden ja elävien siivellisten ja siivettömien nuorien kuningattarien osuudet ja yksilömäärät kolmessa käsittelyssä.

### 3.2 Kartta keoista

Kartassa 3. näkyvät 7.6. kartoittamani 38 kekoa, mitkä keoista olivat mukana kokeissa ja kekojen arvioitu koko. Kekoja, joista käytin vanhoja kuningattaria oli 15, mutta 3 niistä ei näy kartassa, koska en löytänyt kekoja uudelleen GPS lukeman tarkkuusvirheen tai jonkin muun syyn vuoksi. Nuoria kuningattaria tuottaneet keot ovat joko keskikokoisia tai isoja.



**Kartta 3.** 38 kekoa kartoitukselta 7.6.2018. Symbolin väri kertoo, miten keko on osallistunut kokeisiin ja koko keon kokoluokan. Keot, joista osallistui nuoria kuningattaria, on nimetty karttaan. MYSH163-keosta oli käytössä sekä nuoria että vanhoja kuningattaria. Koko superkolonia ei näy tässä kartassa. (Kartassa käytetty: alueen peruskarttalehti (MML: Paituli) ja ortokuva (MML: paikkatietoikkuna).)

### 3.3 Lajinmääritys

Tupsukekomuurahainen voi Suomessa risteytyä kaljukekomuurahaisen kanssa (Kulmuni ym. 2010). Määritysohjeiden perusteella Myggforsskogenin muurahaiset saattavat olla jonkin asteen risteymiä,

koska monessa keossa työläisten takaraivon karvamäärä on alle tupsukekomuurahaisen alarajan (Taulukko 2.).

Toisaalta Etelä-Suomessa tupsukekomuurahaiset ovat usein tavallista kaljampia ja karvat niin vaatimattomia, että niitä voi olla hankalaa löytää (Collingwood 1979; Vepsäläinen & Savolainen 2016).

**Taulukko 2.** Työläisten takaraivon karvojen lukumäärien keskiarvot.

Keko	Työläisiä tarkistettu	Karvojen lkm ka
SANJA1	39	4,12
MYSH1610	35	4,49
MYSH163	28	3,51
MYSH16	28	3,80
MY2HH16	12	3,60
MY118	7	4,30
MY5HH16	6	2,70
MY718	6	2,80
MYES1	6	4,20
MYES2	6	2,20
MYES3	6	3,80
MYXX	6	3,80
yhteensä	185	
kolonian keskiarvo		3,85

### 3.4 Kuningattarien parittelun tarkistus

Tarkastin spermathekat eloonjääneiltä nuorilta kuningattarilta (Taulukko 3.). Eloonjääneitä oli eniten käsittelystä NQVQ ja suurella osalla edelleen siivet. Siivellisillä takaruumis oli hyvin pehmeä, ja vaikutti siltä, että lisääntymiskoneisto oli siksi hankalaa saada pysymään tarkastelussa ehjänä. Siksi siivellisistä suurempi osa jäi parittelun suhteen epävarmoiksi kuin siivettömistä. Suurin osa nuorista eloonjääneistä kuningattarista oli kuitenkin varmuudella parittelemattomia, ja todennäköisesti kaikki kokeiden nuoret olivat, sillä ne joutuivat kokeisiin pian kuoriutumisen jälkeen ja poistin kaikki kuoriutuvat koiraat pesistä. Sitä paitsi kuningattaret eivät välttämättä parittele kutikulan ollessa vielä vaalea (Passera & Keller 1992).

**Taulukko 3.** Spermathekojen tarkistuksen tulokset siivellisiltä ja siivettömiltä eloon jääneiltä nuorilta kuningattarilta.

Eloonjääneet nuoret kuningattaret		
Käsittely	Siivettömiä	Siivellisiä
NQT	15	28
NQVQ	4	57
NQVQT	7	6
yhteensä	26	91
ei paritellut	21 (84 %)	56 (62 %)
epävarmoja	5 (16 %)	35 (38 %)

## 4. Tulosten tarkastelu

### 4.1 Muurahaisten käyttäytyminen ja kuningattarien selviytyminen

Tutkimuksessani työläisten aggressiivisuus nuoria kuningattaria kohtaan ilmeni puremisena, piirittämisenä, kiinni pitämisenä ja raahaamisena sekä kiipeämisenä kuningattaren päälle. Havaitsemani aggressiivisuus on tyypillistä työläisille (Heinze ym. 1994) ja luulen, että lähes kaikki nuoret kuningattaret menehtyivät NQT- ja NQVQT -käsittelyissä tämän havaitsemani väkivallan seurauksena. Työläiset voivat tappaa kuningattaria myös vetämällä ne pesästä pois nääntymään nälkään (Brian 1988). On mahdollista, että myös tässä tutkimuksessa osa kuningattarista kuoli, koska työläiset eivät syöttäneet niitä. Tämän havaitseminen olisi vaatinut kuitenkin enemmän aikaa käyttäytymisen seuraamiseen. Pureminen on tavallista myös kuningattarien välisissä taisteluissa, ja ne usein myös taivuttavat takaruumistaan uhkailevasti eteenpäin ja voivat käyttää pistintään vastustajan vahingoittamiseksi (Heinze ym. 1994; Balas & Adams 1996). En kuitenkaan havainnut lainkaan tällaista aggressiivisuutta kuningattarien välillä. Tuntosarvilla haistelu on tavallista, kun muurahaiset tunnistavat toisiaan (Holzer ym. 2006). Holzerin ym. (2006) tutkimuksessa *Formica paralugubriksella* superkolonian pesien välillä ei ollut aggressiivisuutta, mutta työläiset kuitenkin haistelivat toisiaan enemmän, kun ne olivat eri pesistä. Huomasin myös omassa tutkimuksessani, että työläiset haistelivat eri keon vanhoja kuningattaria jonkin aikaa kokeiden alussa ja myös vanhat ja nuoret kuningattaret haistelivat toisiaan. Tämä viittaa siihen, että superkoloniassa muurahaiset havaitsevat eroja kekojen välillä (Holzer ym. 2006).

Tyypillisesti työläiset syöttävät kuningattaria ja muita työläisiä, jotka eivät poistu pesästä (Liebig ym. 1997). Syöttäminen tapahtuu oksentamalla nestemäistä ravintoa toisen muurahaisen suuhun (*eng. trophallaxis*) ja tähän kuuluu myös tyypillinen muurahaisten keskinäinen pään tunnustelu tuntosarvilla (Liebig ym. 1997). Tutkimuksessani syöttäminen vastasi näitä aiempia havaintoja. Koska en havainnut aggressiivisuutta kuningattarien välillä, suuri osa vanhoista ja nuorista kuningattarista kuoli todennäköisesti nälkään käsittelyssä, jossa työläiset eivät olleet syöttämässä niitä. Kaikki kuningattaret eivät osanneet syödä ilman työläisiä. On mahdollista, että kuningattaria kuoli myös koeolosuhteiden aiheuttamaan stressiin. Stressi selittäisi muutaman vanhan kuningattaren kuoleman myös työläisten kanssa, sillä en havainnut työläisten olevan niille aggressiivisia. Oletettavasti suunnilleen yhtä monta nuortakin kuoli stressiin. Stressin vaikutuksesta koloniassa voidaan syödä munia ja toukkia (Sorensen ym. 1983) ja kuningattaret eivät muni (Abril ym. 2008). Muurahaisilla oli kuitenkin jatkuvasti vettä ja ruokaa ja yhdessä koepesässä havaitsin vanhojen kuningattarien munineen, joten koetilanne ei todennäköisesti ollut erityisen stressaava.

Sitä paitsi vanhat kuningattaret ja työläiset pärjäsivät hyvin jopa toista kuukautta säilytyksessä pesälaatikoissaan odottamassa koepesiin siirtoa. Vaikka koepesissä oli enemmän häiriötä, stressi ei selitä isoa eroa vanhojen ja nuorien kuningattarien kuolleisuudessa käsittelyissä, joissa työläiset olivat mukana (Kuvat 18 ja 19). Koska työläisten aggressiivisuus kohdistui vain nuoriin kuningattariin, tappaminen on todennäköisin selitys eroille kuolleisuuksissa.

## 4.2 Miksi työläiset tappavat nuoria kuningattaria?

Tulosteni ja havaintojeni perusteella tupsukekomuurahaisen työläiset todella siis tappavat oman kekonsa nuoria kuningattaria. Samat työläiset ovat todennäköisesti jo ruokkineet kuningattaria toukkina, joten herää kysymys, miksi hoitaminen vaihtuu tappamiseen? Superkoloniaalisilla vieraslajeilla syitä tappamiseen on tutkittu jonkin verran (Balas 2005), mutta kekomuurahaisilla vielä varsin vähän. Mahdollisia syitä valikoivaan tappamiseen on useita. Työläiset voivat hylkiä kuningattaria jonkin ominaisuuden perusteella. Tappaminen voi johtua myös superkolonian sisäisistä kiistoista tai liittyä kolonian tuottavuuteen. Mahdollisesti tappamispäätökseen vaikuttaa samanaikaisesti useampi kuin yksi tekijä.

Kuningattarien parittelustatus, muut fysiologiset ominaisuudet, morfologia ja genotyyppi voivat vaikuttaa siihen, miten työläiset suhtautuvat niihin. Forteliuksen ym. (1993) tutkimuksessa karvakekomuurahaisella työläiset tappoivat paritelleita nuoria kuningattaria riippumatta, olivatko ne omasta vai toisesta keosta. Cherixin ym. (1991) kokeessa samalla lajilla paritelleet kuningattaret tapettiin erityisesti, kun ne siirrettiin saman kolonian sisällä eri kekkoon. Samoin on havaittu *Formica selysillä* (Meunier ym. 2011). Myös Sundströmin (1997) kokeessa kantomuurahaisen (*Formica truncorum*) monikuningattariset koloniat tappoivat paritelleita kuningattaria. Tulosteni perusteella tupsukekomuurahaistyöläiset tappoivat kuitenkin oman kekonsa parittelemattomia kuningattaria. Koska kuningattaret eivät olisi pystyneet munimaan uusia työläisiä ja kuningattaria, niistä ei olisi kolonian tuottavuuden kannalta ollut juurikaan hyötyä (Fortelius ym. 1993). Parittelemattomat kuningattaret saattaisivat vain jäädä pesäloisiksi munimaan koiraita kolonian kustannuksella, mikä voi olla syy sille, että työläiset tappoivat niitä (Fortelius ym. 1993). Tupsukekomuurahaiskolonioissa 10 % lisääntyvistä kuningattarista voi olla parittelemattomia (Fortelius ym. 1993), mikä kertoo, että osa kuningattarista onnistuu tästä huolimatta jäämään.



Työläiset voivat saada tietoa kuningattaren hedelmällisyydestä (Hannonen ym. 2002) ja genotyypistä (Keller & Ross 1999) kutikulan yhdisteiden perusteella. Tulimuurahaisella työläiset tappavat kuningattaria, joilla on tietyn geenin dominoiva alleeli homotsygoottisena (Keller & Ross 1999). Jostain syystä kuningatarfenotyyppiä halutaan kontrolloida niin, että isommat aikaisin kypsyvät kuningattaret tapetaan (Keller & Ross 1999). En mitannut tutkimuksessani vastaavia nuorien kuningattarien välisiä geneettisiä, fysiologisia tai morfologisia eroja, jotka voisivat selittää tappamista. Toisaalta lajinmäärityksen perusteella tutkimukseni muurahaiset saattoivat olla kahden lajin risteymiä (Kulmuni ym. 2010). Voisiko tämä olla syy tappamiseen? Työläiset eivät välttämättä hyväksy hybridejä kuningattaria, sillä niiden hedelmällisyys saattaa olla heikentynyt (Helms Cahan & Vinson 2003). Toisaalta kekomuurahaisilla hybridit kuningattaret ovat yleensä elinvoimaisia ja saavat lisääntyä kolonioissa (Kulmuni ym. 2010; Seifert ym. 2010) ja hybridit saattavat jopa pärjätä paremmin tietynlaisissa ympäristöissä (Seifert ym. 2010). Risteytymisen vaikutus työläisten adoptiohalukkuuteen on kuitenkin vielä varsin tutkimatonta aluetta näillä muurahaislajeilla.

Kuningattarien tappaminen voi johtua myös alhaisesta sukulaisuudesta, joka on superkoloniassa seurausta kuningattarien adoptoinnista ja vaarantaa erityisesti työläisten kelpoisuutta (Keller 1995). Myös kuningattarien liikkuminen pesien välillä voi johtaa siihen, että keväällä kypsyvät kuningattaret ovat vähän sukua niitä hoitaville työläisille (Keller ym. 1989). Argentiinanmuurahaisella jopa 90 % kuningattarista tapetaan lisääntymiskauden alussa riippumatta niiden iästä, koosta tai hedelmällisyydestä (Keller ym. 1989; Inoue ym. 2015). Inouen ym. (2015) tutkimuksen perusteella vaikuttaa siltä, että kuningattarien tappaminen nostaa työläisten keskinäistä sukulaisuutta. Kun kuningattarien määrä laskee, superkoloniassa on vähemmän äitilinoja ja tätä kautta vähemmän geneettistä vaihtelua työläisten kesken. Tämän seurauksena kohonnut kolonian keskinäinen sukulaisuus voi pelastaa työläisten epäsuoraa kelpoisuutta (Inoue ym. 2015). Näin voi tapahtua myös tupsukekomuurahaisella, mutta toisaalta tappamisen olisi tällöin pitänyt kohdistua myös vanhoihin kuningattariin.

Tappaminen voi olla työläisten keino muuten kontrolloida hoidettavien kuningattarien määrää ja kolonian tuottavuutta. Se millä tehokkuudella kolonia tuottaa jälkeläisiä, vaikuttaa työläisten ja toisaalta kuningattarien kokonaiskelpoisuuteen (Backus 1993; Bourke & Chan 1999). Työläisten kannalta olisi varmasti kustannustehokkaampaa, jos paljon jälkeläisiä tuotettaisiin pienemmällä hoivattavalla kuningatarmäärällä (Bourke & Chan 1999). Myös kuningattaret hyötyisivät kilpailun vähenemisestä, sillä ne munivat superkoloniassa suhteessa vähemmän, mikä voi johtua siitä, että yksittäiseen kuningattareen pystytään panostamaan vähemmän (Keller 1988). Täten kun kuningatarmäärä on jo suuri, uusien kasvattamisesta tai adoptoinnista ei ole enää välttämättä hyötyä kolonian kelpoisuudelle (Bourke & Chan 1999; Brown ym. 2003), varsinkaan



jos uudet kuningattaret ovat vähemmän sukua ja teettävät enemmän hoivatyötä (Reeve 1989; Heinze ym. 1994). Työläiset saattavatkin pitää kuningattarien määrän tietyissä rajoissa resurssien riittävyyden takaamiseksi (Brown ym. 2003). Kuningattarien täydentämishypoteesin mukaan työläisten pitäisi kasvattaa uusia kuningattaria vasta, kun niiden määrä laskee tietyn rajan alapuolelle (Brown ym. 2003; Kümmerli ym. 2005). Kuningatarmäärää saatetaan seurata arvioimalla sukulaisuutta (Kümmerli ym. 2005) tai kuningattarien tuottaman feromonimäärän perusteella (Fletcher & Blum 1982). Kuningatarmäärän muutosten havaitsemiseen voi kuitenkin kulua aikaa (Kümmerli ym. 2005). Ehkä tämän tutkimuksen keot tuottivat tarpeeseen liikaa kuningattaria ja huomattuaan virheensä, alkoivat tappaa ylimääräisiä. Kümmerlin ym. (2005) tutkimuksessa kuningattarien poistaminen karvaloviniskan monikuningattarisesta koloniasta sai työläiset kasvattamaan uusia kuningattaria. Brownin ym. (2003) tutkimuksessa karvaloviniskatyöläiset tappoivat kuningattaria kolonioissa, joilla ei ollut tarvetta kasvattaa niitä. Toisaalta, jos kuningattaret munivat heikosti, kolonian tuottavuus ja työläisten kelpoisuus laskee (Bourke & Chan 1999). Työläisten kannattaa siis suosia elinvoimaisia ja hyviä lisääntyjiä varsinkin, jos sukulaisuus kuningattariin on kaikille yhtä epävarmaa (Bourke & Chan 1999; Balas 2005). Täten, kun koloniassa on jo munivia paritelleita kuningattaria, uusille ei välttämättä ole tarvetta (Kümmerli ym. 2005). Tämä voisi selittää, miksi vanhojen kuningattarien läsnäolo lisäsi nuorien tappamista tässä tutkimuksessa. Ne olivat hedelmällisiä, hyväkuntoisia ja niitä oli ehkä työläisten näkökulmasta tarpeeksi, jolloin investointi uusiin paritteleemattomiin kuningattariin olisi ollut turhaa.

#### 4.3 Vanhat kuningattaret murhaajina?

Olisivatko tutkimukseni vanhat kuningattaret voineet manipuloida työläiset tappamaan uusia kuningattaria? Jos vanhojen kuningattarien lisääntymisoikeus koloniassa siirtyy lähisukuisille kuningattarille, kuten omille tyttärille, vanhat kerryttävät epäsuoraa kelpoisuutta uusien kuningattarien kautta vielä kuolemansa jälkeen (Evans 1996). Superkoloniassa uudet kuningattaret, joiden kanssa lisääntymisoikeus pitäisi jakaa, voivat olla kuitenkin kaukaisempaa sukua ja vanhojen kuningattarien suora kelpoisuus laskee verrattuna lisääntymisen monopolisointiin (Heinze ym. 1994; Keller 1995). Siksi nuorien kuningattarien adoptio voi olla vanhoille kuningattarille epäedullista eivätkä ne halua menettää lisääntymisoikeuttaan uusille kuningattarille (Bourke &

Chan 1999). Kuningattarien välillä voi olla lisääntymiskilpailua (Ratnieks ym. 2006), jonka vanhat kuningattaret pyrkivät voittamaan. Faaraomuurahaisella kuningattarien munissa on viestiainetta, joka estää työläisiä kasvattamasta uusia kuningattaria (Edwards 1987). Argentiinanmuurahaisella (Vargo & Passera 1991; Passera ym. 1995) sekä tulimuurahaisella (Klobuchar & Deslippe 2002) vanhat kuningattaret erittävät feromonit, joka saa työläiset tappamaan kehittyviä kuningattaria. Tupsukekomuurahaisella ei toistaiseksi tiedetä olevan tällaista kuningatarferomonit, mutta sen olemassaolo voisi osaltaan selittää, miksi vanhojen kuningattarien läsnäolo lisäsi nuorien tappamista.

Keot jakautuivat tappamisnopeudeltaan kahteen ryhmään käsittelyssä, jossa nuoret kuningattaret, vanhat kuningattaret ja työläiset olivat yhdessä (NQVQT). NQVQT-käsittelyssä kolme kekoa, jotka tappoivat kuningattarensa nopeasti, olivat tuottaneet myös eniten kotelaita. Monikuningattarisissa kolonioissa kuningattarien välisen lisääntymisjaon on havaittu olevan epätasainen (Kümmerli & Keller 2006; Bargum & Sundström 2007; Ozan ym. 2013). Valtava kotelomäärä saattoi johtua siitä, että vanhat kuningattaret ovat kilpailleet lisääntymisen suhteen ja panostaneet kukin enemmän kuningattarien kuin työläisten munimiseen. Tällaisen kilpailuhypoteesin on havaittu pitävän paikkansa mm. ani-linnuilla (*Crotophaga ani*), joilla useat naaraat munivat samassa pesässä (Schmaltz ym. 2007). Lisääntymiskilpailun voittamiseksi kukin naaras yrittää lisätä omien muniensa suhteellista määrää munimalla enemmän kuin toiset. Toisten munia myös tuhotaan, jotta hoiva kohdistuisi omiin muniin (Schmaltz ym. 2007). Voisiko olla, että muurahaiskuningattarien kesken käydään samanlaista kilpailua? Ne vain tappavat toisten kuningattarien tyttäriä työläisten välityksellä välttyäkseen itse vahingoittumiselta (Heinze ym. 1994).

Kekojen väliset aggressiivisuuserot voivat johtua myös eroista yksittäisissä työläisissä (Holzer ym. 2006), varsinkin kun vertailtavien kekojen määrä on näin pieni. Erot ovat voineet johtua myös siitä, että keot ovat olleet kuningattarien tuotannon eri vaiheissa. Pesäkohtaisia eroja tappamisessa on ilmennyt muissakin tutkimuksissa (Fortelius ym. 1993; Stuart ym. 1993). Forteliuksen ym. (1993) tutkimuksessa nuorien kuningattarien hyväksyminen karvakekomuurahaisen keoissa oli aktiivisinta lisääntymiskauden alussa, kun kuningattarien kasvatus oli käynnissä. Stuartin ym. (1993) tutkimuksessa lajilla *Leptothorax curvispinosus* kuningattarien hyväksyminen puolestaan lisääntyi syksyä kohti. Se missä vaiheessa keko on voi siis vaikuttaa adoptiopäätökseen. Tutkimuksessani keot MY2HH16 ja SANJA1 olivat koteloiden keruuhetkellä mahdollisesti hieman kolmea muuta kekoa myöhäisemmässä tuotantovaiheessa. Löysin niistä vähemmän kotelaita mahdollisesti, koska suuri osa kuningattarista oli jo kuoriutunut. Ehkä kevään loppupuolella kuoriutuneet kuningattaret hyväksytään herkemmin omaan kekoon,

koska uusia kuningattaria ei enää ole kuoriutumassa. Voi myös olla, että keot tappavat kuningattaria vain kevään alussa. Kun kuningattaria kuoriutuu kerralla paljon, parittelemattomien pesäloisimisriski mahdollisesti kasvaa. Toisaalta, jos osassa keoista on vähemmän kuningattaria, niillä voi olla enemmän tarvetta uusille kuningattarille (Kummerli ym. 2005).

#### 4.4 Levittäytymiskiista superkoloniaalisella muurahaisella?

On mahdollista, että tupsukekomuurahaisten superkoloniassa on levittäytymiskiista, joka johtaa nuorien kuningattarien tappamiseen, kun nämä eivät lähde syntymäkeostaan. Levittäytymiskiista tunnetaan parhaiten nisäkkäillä (Trivers 1974; Clutton-Brock ym. 1998; Whiteside ym. 2011). Lisääntymisyhteistyötä tekevilla nelisormimangusteilla (*Suricata suricatta*) ryhmän dominoivat naaraat karkottavat alempiarvoiset naaraat pesästä ja tappavat niiden pentuja lisääntymiskauden alussa (Clutton-Brock ym. 1998). Levittäytymiseen liittyviä kiistoja esiintyy myös hyönteisillä (Roitberg & Mangel 1993), joten miksei tällainen pakotettu pesästä poistaminen olisi mahdollista muurahaisillakin. Levittäytymisestä on etua emokolonian kokonaiskelpoisuudelle vähentyvän kuningattarien välisen kilpailun (Roitberg & Mangel 1993), vähentyvän hoivattavan kuningatarmäärän (Backus 1993) ja geenien leviämisen (Comins ym. 1980) kautta. Toisaalta levittäytymisen riskit, kuten saaliiksi joutuminen (Keller 1991), ajavat kuningattaria hakemaan adoptiota ja työläiset voivat poistaa koloniaan pyrkiviä kuningattaria tappamalla. Superkoloniassa kuningattarien adoptio sekä omaan pesään että pesästä toiseen (Chapuisat & Keller 1999) laskee sukulaisuutta (Keller 1995), ja kilpailun välttämiseksi vanhat kuningattaret voivat manipuloida työläiset tappamaan nuoria kuningattaria, kun ne pyrkivät koloniaan (Vargo & Passera 1991). Kuningattarien parittelemattomuus voi pahentaa kiistaa, koska pesään jäädessään ne olisivat tässä tapauksessa vain sosiaalisia loisia (Fortelius ym. 1993).

Siipien pudottaminen olisi ollut selvä merkki siitä, että kuningattaren lentäminen pois ei tule enää kysymykseen. Parittelemattomia siivekkäitä saatetaankin pitää keossa, koska ne saattavat paritella ja lentää pois myöhemmin (Sundström 1997). Tutkimuksessani hitaammin tappavissa pesissä vaikutti enemmän siltä, että vasta siipensä pudottaneiden kuningattarien kimppuun käytiin, mutta tämä on kuitenkin vielä epävarmaa. Siipien merkitys työläisten käyttäytymiselle vaikutti yleisesti vähäiseltä, koska työläiset purivat sekä siivekkäitä että siivettämiä kuningattaria. Osa keoista alkoi tappaa kuningattaria jo tarkkailujakson alussa, jolloin kuningattaret olivat vasta vuorokauden ikäisiä eli tuskin edes tarpeeksi kypsiä lentämään pois

pesästä. Omien havaintojeni perusteella lentäminen alkoi sujua vasta kutikulan tummuttua muutaman päivän päästä. Myös muissa tutkimuksissa *Formica* -lajeilla siipien vaikutus työläisten aggressiivisuuteen on ollut vähäistä (Fortelius 1993; Sundström 1997). Forteliuksen ym. (1993) tutkimuksessa siipien poistaminen ei lisännyt parittelemattomien kuningattarien tappamista vaan tappaminen kohdistui nimenomaan paritelleisiin kuningattariin, kuten Sundströmin (1997) tutkimuksessa. Työläiset eivät siis välttämättä edes kiinnitä huomioita siipiin. Sitä paitsi superkoloniassa levittäytyminen tapahtuu suurelta osin jalan (Fortelius ym. 1993), joten lentämisen jättäminen ei vielä tarkoita kekoon jäämistä.

Tulimuurahaisella vanhat kuningattaret voivat feromonaalisesti estää siipien pudottamista ja lisääntymiskehitystä (Fletcher & Blum 1981). Todennäköinen selitys siipien pidemmälle säilytysajalle pelkkien vanhojen kuningattarien kanssa on todennäköisesti kuitenkin se, että kuningattaret säilyttivät lentokykynsä ilman työläisten läsnäoloa, koska ilman niitä silmikointi ei onnistu, tai työläiset irrottivat siivet suurelta osalta tapetuista kuningattarista.

#### 4.5 Miten superkoloniaalisuus on kehittynyt? Säilyvätkö superkoloniat?

1911 William Wheeler kuvasi muurahaisyhdyskuntaa supereliönä, jonka osat, työläiset ja kuningatar, ovat lisääntymisen suhteen kytkeytyneet ja riippuvaisia toisiaan. Supereliö -elintapa on seurausta fysiologisesta kastijaosta (Boomsma & Gawne 2018), joka on vaatinut kehittyäkseen yksiavioisen lisääntyvän kuningattaren kolonian ainoana munijana (Boomsma 2007), mikä on taannut korkean sukulaisuuden ja työläisten kelpoisuuden lisääntymisestä luopumisen jälkeen (Boomsma 2007; Boomsma & Gawne 2018). Yksi lisääntyvä kuningatar on ollut todennäköisesti alkutilanne myös monikuningattarisilla ja superkoloniaalisilla lajeilla (Boomsma 2007; Meunier ym. 2011; Boulay ym. 2014). Tutkimuksessani vanhojen kuningattarien hyväksyminen uusiin pesiin vahvistaa tupsukekomuurahaisen superkoloniaalisuutta ja käsitystä siitä, ettei varsinaisia pesärajoja ole. Miten työläisten kelpoisuutta takaava yksi lisääntyvä kuningatar on voinut vaihtua moneen lisääntyvään kuningattareen ja monimutkaiseen pesäverkostoon, jotka johtavat sukulaisuuden laskuun altistaen kolonian sisäisille kiistoille?

Monesta pesästä ja kuningattaresta on etuja, jotka voivat kompensoida sukulaisuuden laskun (Boomsma 2007; Boulay ym. 2014) ja kun fysiologinen kastien erilaistuminen on edennyt tarpeeksi pitkälle, monikuningattarisuus on voinut kehittyä hajottamatta kolonian lisääntymisyhteistyötä (Boomsma 2007). Todennäköisesti monikuningattarisuus on seurausta siitä,

että kuningattaret pyrkivät syntymäkoloniaan lentämisen ja itsenäisen pesän perustamisen ollessa liian riskialttiita (Pamilo & Rosengren 1984; Keller 1991; Seppä ym. 1995; Chapuisat ym. 2004). Kuningattaret voivat lentäessään joutua helposti saaliiksi (Keller 1991; Seppä ym. 1995) ja kolonian perustamisen alussa työläisiä on puolustukseen vielä vähän (Keller 1991). Tällöin uusille kuningattarille on turvallisempaa jäädä valmiiseen koloniaan munimaan työläisten kustannuksella (Keller 1991; Pamilo 1991). Metsäympäristö voi suosia superkoloniaalisuutta kekomuurahaisilla (Seppä ym. 1995). Kun havumetsä muuttuu sukkession myötä yhä varjoisammaksi, sopivat aurinkoiset pesäpaikat vähenevät (Seppä ym. 1995). Tämä ajaa jäämään sopivien pesäpaikkojen yhteyteen ja levittäytymään silmikoimalla. Levittäytymisetäisyydet kekomuurahaisilla ovatkin tunnetusti lyhyitä (Fortelius ym. 1993; Chapuisat & Keller 1999; Liautard & Keller 2001), mikä voi johtaa elinalueen täyttymiseen uusista keoista ja uusien paikkojen rajallisuus voi yhä enemmän ajaa kuningattaria jäämään syntymäkekkoon (Seppä ym. 1995; Chapuisat ym. 2004). Adoptoidut kuningattaret voivat aloittaa uusien seksuaalimuotojen munimisen nopeasti, koska niiden ei tarvitse munia niin paljon omia työläisiä (Pamilo & Rosengren 1984). Työläiset ovat geenien leviämisen kannalta umpikujia, koska ne eivät voi lisääntyä, joten kuningattarien kelpoisuudelle on parempi munia enemmän koiraita ja kuningattaria (Bargum & Sundström 2007). Tämä voi taata kuningattarelle suuremman kelpoisuuden verrattuna muihin kuningattariin (Ozan ym. 2013).

Mutta mitä etuja kolonialle voisi olla kasvavasta kuningatarmäärästä? Myös työläisten kelpoisuuden kannalta kuningattarien tuottaminen on hyödyllisintä, vaikka toki tarvitaan myös uutta työvoimaa (Bargum & Sundström 2007). Useat kuningattaret voivat myös heikentää vieraiden kuningattarien ja lajien loisintamahdollisuuksia (Brown ym. 2003) ja kasvattaa kolonian geneettistä monimuotoisuutta, mikä voi lisätä vastustuskykyä loisille ja taudeille (Chapuisat ym. 2004). Nonacsin (1988) mukaan useampi kuningatar voi pidentää kolonian elinikää ja kasvattaa eliniän jälkeläistuottoa, mikä lisää kolonian kelpoisuutta kokonaisuutena. Toisaalta jo pelkkä kolonian koon kasvu voi olla eduksi. Vaikka superkoloniassa yksittäisen kuningattaren jälkeläistuotto laskee (Keller 1995), yhteensä kuningattaret munivat enemmän työläisiä, mikä johtaa isompaan koloniaan (Boulay ym. 2014). Kun kuningattaret ja työläiset perustavat uusia pesiä vanhojen yhteyteen, syntyy monipesäinen kolonia (Debout ym. 2007). Monipesäisyys voi puolestaan olla kolonian henkivakuutus, sillä vaikka yksi pesä tuhoutuu tai muuttuu elinkelvottomaksi, kolonia säilyy (Debout ym. 2007). Monipesäisyys myös tehostaa tutkitusti kolonian ravinnon hankintaa (Stroeymeyt ym. 2017). Useampi pesä lisää todennäköisyyttä, että edes joku niistä löytää ravintoa (Stroeymeyt ym. 2017) ja pesien väliset etäisyydet ovat tyypillisesti lyhyitä (Debout ym. 2007). Näin ravinnon etsintään kuluu vähemmän aikaa ja pesien väliset yhteydet mahdollistavat ravinnon

jakamisen myös pesiin, jotka eivät löydä sitä. Ravinnon saatavuuden ja laadun paikallinen vaihtelu ei siten heikennä superkolonian menestymistä (Stroeymeyt ym. 2017).

Ekologisista eduista huolimatta superkoloniaa pidetään elintapana evoluution umpikujana, joka lopulta hajoaa siihen, ettei altruismista ole enää kelpoisuushyötyjä työläisille (Keller 1995; Helanterä ym. 2009). Superkolonioissa ja monikuningattarisissa kolonioissa työläisillä ei ole havaittu lähisukulaisiin kohdistuvaa hoivaa, vaikka se olisi oletettavaa niiden epäsuoran kelpoisuuden kannalta (Zinck ym. 2009; Martin ym. 2009; Friend ym. 2012). Nepotismi voi olla vaikeaa monikuningattarisessa systeemissä, jos erot kutikulan molekyyleissä ovat olemattomia (Zinck ym. 2009; Friend ym. 2012). Tämä voi johtua siitä, että pesät ovat silmikoinnin seurauksena geneettisesti hyvin samanlaisia (Martin ym. 2009).

Tyypillisesti superkolonia on niin suuri, että suorat yhteydet kaukaisempien pesien välillä ovat mahdottomia (Helanterä ym. 2009; Moffett 2012) ja kuningattarien olematon levittäytyminen aiheuttaa kekomuurahaisten superkolonoihin geneettisesti samankaltaisia pesäkeskittymiä (Chapuisat ym. 1997; Liautard & Keller 2001; Holzer ym. 2006; Schultner ym. 2016). Uhkana on, että superkolonia jakautuu pieniksi ryhmiä (Schultner ym. 2016) jotka ovat aggressiivisia toisilleen (Kidoro-Kobayashi ym. 2012). Vähäinen levittäytyminen lisää myös mahdollisuutta sisäsiirtoisuuteen (Sundström ym. 2005). Tämänkin tutkimuksen kuningattaret saattoivat olla sisäsiirtoisia, jos niiden emo oli paritellut lähisukuisen koiraan kanssa (Chapuisat ym. 2004; Sundström ym. 2005). Sisäsiirtoiset kuningattaret voivat munia hedelmättömiä jälkeläisiä ja työläiset saattoivat siksi tappaa niitä (Loope 2015). Toisaalta sisäsiirtoisuus ei ole superkolonioissa väistämätöntä, sillä yksilöt liikkuvat pesien välillä ja useampi kuningatar vähentää todennäköisyyttä lähisuvun kanssa paritteluun (Chapuisat & Keller 1999). Yksilöiden vaihtuminen pesäkeskittymien välillä voi myös estää superkolonian hajoamista (Schultner ym. 2016). Korkeampi sukulaisuus paikallisissa pesäryhmittymissä voi ylläpitää altruismia työläisillä ja itseasiassa pitää superkolonian kasassa (Helanterä ym. 2009; Kennedy ym. 2014). Silmikoiva levittäytyminen superkoloniassa on ikään kuin kompromissi yksilölevittäytymisen ja toisaalta ryhmään jäämisen välillä, sillä se lievittää paikallista kilpailua, mutta toisaalta levittäytyvässä ryhmässä sukulaiset pysyvät yhdessä (Gardner & West 2006).

Superkoloniaalisuudesta on kilpailuetuja lajeille, jotka sen omaksuvat. Vieraslajeilla superkolonia tuottaa nopeasti paljon työläisiä, leviää tehokkaasti uudella alueella ja syrjäyttää paikallista lajistoa (Tsutsui ym. 2000; Holway ym. 2002). Kekomuurahaiset puolestaan dominoivat omia valtakuntiaan eli metsänpohjia (Savolainen & Vepsäläinen 1988; Punttila & Kilpeläinen 2009). Jossain vaiheessa ekologiset edut mahdollisesti ajavat yksikuningattarisen lajin luopumaan häälennoista, siirtymään monikuningattaraisuuteen ja silmikoivaan uusien pesien muodostamiseen

(Seifert 2010). Lopulta muutokset johtavat uuden superkoloniaalisen lajin syntyyn, mahdollisesti, koska geenivirta sosiaaliselta rakenteeltaan erilaisten yhdyskuntien välillä loppuu (Seifert 2010). Myös lajiristeymillä voi olla osuutensa tässä lajiutumisesä kekomuurahaisilla (Seifert ym. 2010). Superkoloniat saattavat edustaa seuraavaa evolutiivista askelta muurahaisten aitososiaalisuudessa (Kennedy ym. 2014). Niillä on selvät rajat (Holzer ym. 2006) ja jos sukulaisuuden verrokkiryhmäksi valitaan muut superkoloniat, saman superkolonian sisällä suhteellinen sukulaisuus onkin positiivinen (Schultner ym. 2016). Pesien yksilöllisyys häviää, kun ne jakavat resurssit keskenään (Stroeymeyt ym. 2017). Pikkuhiljaa pesien altistuminen erilaisille olosuhteille voi johtaa niiden väliseen työnjakoon myös lisääntymisen suhteen (Kennedy ym. 2014). Selvää lisääntymistyönjakoa pesien välillä ei kuitenkaan ole vielä havaittu, vaikka kaikki pesät eivät tavallisesti tuota seksuaalimuotoja (Kennedy ym. 2014), niin kuin havaitsin tässäkin tutkimuksessa. Superkoloniaalisen elintavan kehittyminen on tuskin suoraviivaista ja kiistat, jotka koskevat kuningattarien pesästä lähtöä voivat liittyä tähän oleellisesti. Erilaisten kiistojen riski on muutenkin aina läsnä, sillä toisinkuin yksittäisen eliön solut, supereliön yksilöt ja superkolonian pesät ovat aina geneettisesti hieman erilaisia (Heinze ym. 1994). Kiistojen ratkaisu kuningattaria tappamalla voi olla oleellista elintavan säilyttämisen kannalta, varsinkin, jos se nostaa paikallista sukulaisuutta (Inoue ym. 2015) tai lisää kolonian tuotantotehokkuutta.

#### 4.6 Huomioita tutkimuksen toteutuksesta ja kehittämisestä

Tutkimukseni toteutustapa saattoi vaikuttaa tuloksiin. Esimerkiksi kuningattarien eristäminen koloniasta voi johtaa niiden hylkimiseen (Balas 2005). Toisaalta tutkimuksessani kuningattaret olivat erillään työläisistä vain kokeisiin siirron ajan eikä vanhoja kuningattaria tapettu, vaikka nekin olivat hetken erillisessä rasiassa. Myös maali saattoi vaikuttaa tuloksiin esimerkiksi peittämällä hajua vanhoilla kuningattarilla. Toisaalta maalimerkinnöillä ei ole ollut vaikutusta kuningattarien tappamiseen muissa tutkimuksissa (Balas & Adams 1996; Sundström 1997). Koeolosuhteissa oli monia muitakin poikkeamia verrattuna luonnon kekoihin. Luonnossa lisääntymiskaudella vanhat kuningattaret ja nuoret kuningattaret ovat tavallisesti keon eri osissa (Cherix ym. 1991), kun tutkimuksessa ne olivat samoissa osissa pesää. Ehkä tämä voi jollain tavalla hämmentää työläisiä. Superkoloniassa pesät ovat poluilla yhteydessä toisiinsa (Heller 2004), mikä ei toteutunut tässä tutkimuksessa. Tarkkailupesissä kuningattarilla ei myöskään ollut mahdollisuutta lentää pois tai silmikäidä työläisten kanssa eli tavallaan pakotin ne jäämään pesäänsä. Vanhat ja nuoret

kuningattaret olivat tutkimuksessa eri keoista, joten vanhat kuningattaret eivät välttämättä olleet munineet nuoria kuningattaria, mikä saattoi lisätä tappamista, jos vanhat kuningattaret vaikuttivat siihen. Jos vanhat olisivat nuorien emoja, niille voisi olla edullisempaa luovuttaa lisääntymisoikeus pesässä (Evans 1996).

Jatkossa tutkimusta voisi kehittää vastaamaan enemmän luonnon olosuhteita. Kuningattaria voisi siirtää luonnonkekoihin pienissä laatikoissa, kuten Forteliuksen ym. (1993) tutkimuksessa. Laatikoihin oli tehty reiät, joista kuningattaret eivät mahtuneet karkaamaan, mutta työläiset mahtuivat kulkemaan sisään ja ulos. Ehkä olisi mahdollista suunnitella myös koeasetelma, jossa pesät olisivat yhteydessä toisiinsa ja kuningattarilla olisi mahdollisuus lentää pesästä pois. Tämä voisi selkeyttää, tapetaanko juuri pesään jäävät kuningattaret. Tutkimukseni perusteella ei voida sanoa varmasti, mikä johtaa tupsukekomuurahaisella nuorien kuningattarien tappamiseen. Vastaavan tutkimuksen voisi toistaa siirtämällä pesiin sekä paritelleita että parittelemattomia kuningattaria, kuten Sundströmin 1997 tutkimuksessa ja toisaalta siivekkäitä ja sellaisia, joilta siivet on poistettu kokeellisesti, kuten Edwardsin (1987) ja Forteliuksen ym. (1993) tutkimuksissa. Näin parittelun ja siipien osuudet tappamispäätökseen selkeytyisivät. Myös genotyypin selvittäminen kuningattarilta voisi paljastaa uusia syitä niiden tappamiseen, kuten risteytymisen toisen lajin kanssa. Superkolonian geneettisen rakenteen tarkastelu voi paljastaa myös lisääntymishierarkioita, vaikka aggressiivisuutta kuningattarien välillä ei havaita (Heinze ym. 1994). Myös kolonian seksuaalituotannon seuraaminen olisi hyödyllistä, sillä se antaisi tietoa siitä, onko kuningattaria tappavissa keoissa siirrytty seuraavalla lisääntymiskaudella koiraiden tuotantoon, koska kuningattaria ei tarvita (Brown & Keller 2002).

## 5. Johtopäätöksiä

Tutkimukseni tarkoituksena oli selvittää, tapetaanko kuningattaria tupsukekomuurahaisella, kuten tunnetummilla superkoloniaalisilla lajeilla. Tulosteni mukaan tappaminen on superkoloniassa todellinen ilmiö. Työläiset tappoivat oman kekonsa nuoria kuningattaria, erityisesti kun läsnä oli vanhoja kuningattaria toisesta keosta. Tappaminen liittyy todennäköisesti parittelemattomuuteen ja levittäytymiskiistaan tai alhaiseen sukulaisuuteen ja kuningatarmäärän kontrollointiin.

Adoptiohalukkuudessa voi olla eroja lisääntymiskauden vaiheiden välillä, mikä voisi selittää kekojen välillä havaittuja aggressiivisuuseroja. Kuningattarien tarkempi tarkastelu voisi paljastaa



geneettisiä tai morfologisia syitä tappamiseen. Siipien pudottamisen merkitys on vielä epäselvä ja tätä voisi tutkia tarkemmin toisenlaisella koesuunnittelulla, jossa siivet poistettaisiin ennen siirtoa koepesiin. Vanhojen kuningattarien tappamista lisäävä vaikutus voi selittyä sillä, että kuningattaret manipuloivat työläisiä feromonaalisesti tai työläiset kokevat uudet kuningattaret niiden läsnäollessa vielä tarpeettomammiksi. Näiden selvittäminen vaatii kuitenkin vielä lisää tutkimusta.

Sukulaisvalintateorian perusteella superkolonia on sosiaalisena järjestäytymisenä epävakaa. Jos tappaminen on keino nostaa superkolonian sisäistä sukulaisuutta, kuten on epäilty argentiinanmuurahaisella (Inoue ym. 2015), se voi turvata tämän paradoksaalisen elintavan säilymistä. Toisaalta, jos tappaminen on merkki siitä, että kolonian sisäiset kiistat ovat kärjistyneet, superkolonia voi olla hajoamassa omaan mahdottomuuteensa. Jos työläiset tappavat niin paljon kuningattaria, että kolonian lisääntyminen kärsii, koko kolonian kelpoisuus laskee (Evans 1996; Kümmerli ym. 2005). On myös mahdollista, että levittäytymiskiista ja tappaminen ovat luonnollinen osa superkoloniaalisen elintavan kehitystä. Superkolonioiden kasassa pitävät ja toisaalta niiden olemassaoloa uhkaavat tekijät sekä näiden väliset voimasuhteet vaativat edelleen tutkimusta, jotta selviäisi mitä tälle elintavalle ajan myötä tapahtuu ja miten kuningattarien tappaminen vaikuttaa siihen. Myös muurahaisten levittäytymisessä on vielä tutkittavaa, erityisesti superkoloniaalisilla lajeilla. Toivottavasti tulevaisuudessa keksitään niin pieniä radiolähettimeitä, että niitä voidaan asentaa muurahaisille.

## 6. Kiitokset

Kiitos ja anteeksi arvon muurahaiset. Kiitos ohjaajilleni Sanja Hakalalle ja Heikki Helanterälle perehdyttämisestä muurahaistutkimuksen maailmaan, kärsivällisyydestä, rentoudesta ja kommentoinnista ohjaamisprosessin aikana. Kiitos myös Hannu Pietiäiselle kannustuksesta ja tutkielman kommentoinnista. Kiitos Méliissa Peignier ja Enjoy avusta muurahaisten keräämisessä ja hoitamisessa sekä mukavasta seurasta Tvärminnessä. Kiitän Tvärminnen eläintieteellistä asemaa majoituksen ja tutkimustilojen järjestämisestä. Kiitos tutkimusryhmälle, Evolution, Sociality and Behaviour: Team Antzz, myönnetyistä gradustipendistä ja Suomen Biologian Seura Vanamo ry:lle tutkimukselle myönnetyistä apurahasta. Lämmin kiitos Eeva Vakkarille pilottikokeen tekemisestä, josta sain vinkkejä tutkimukseni toteutukseen. Kiitos muille ystäväilleni, vanhemmilleni,

isovanhemmilleni ja kissalleni Emmalle ymmärryksestä ja tuesta tutkielman tekemisen aikana.  
Kiitos opettajalleni Lauralle, että lähdin opiskelemaan biologiaa.

## 7. Lähteet

- Abril S., Oliveras J. & Cómez C. 2008: Effect of temperature on the oviposition rate of Argentine ant queens (*Linepithema humile* Mayr) under monogynous and polygynous experimental conditions. — *Journal of Insect Physiology*, 54: 265–272.
- Aksoy V. & Camlitepe Y. 2018: Spectral sensitivities of ants – a review. — *Animal Biology*, (2018) DOI 10.1163/15707563-17000119.
- Ascunce M. S., Yang C.-C., Oakey J., Calcaterra L., Wu W.-J., Shih C.-J., Goudet J., Ross K. G., Shoemaker D. 2011: Global Invasion History of the Fire Ant *Solenopsis invicta*. — *Science*, 331: 1066–1068.
- Backus V. L. 1993: Packaging of offspring by nests of the ant, *Leptothorax longispinosus*: parent-offspring conflict and queen-worker conflict. — *Oecologia*, 95: 283–289.
- Balas M. T. & Adams E. S. 1996: The dissolution of cooperative groups: mechanisms of queen mortality in incipient fire ant colonies. — *Behav Ecol Sociobiol*, 38: 391–399.
- Balas M. T. 2005: Conditions favouring queen execution in young social insect colonies. — *Insectes Sociaux*, 52 (2005): 77–83.
- Bargum K. & Sundström L. 2007: Multiple breeders, breeder shifts and inclusive fitness returns in an ant. — *Proceedings of The Royal Society B*, 274: 1547–1551.
- Bhatkar A. & Whitcomb W. H. 1970: Artificial Diet for Rearing Various Species of Ants. — *The Florida Entomologist*, 53(4): 22–232.
- Boomsma J. J. & Gawne R. 2018: Superorganismality and caste differentiation as points of no return: how the major evolutionary transitions were lost in translation. — *Biological Reviews*, 93: 28–54.
- Boomsma J. J. 2007: Kin Selection versus Sexual Selection: Why the Ends Do Not Meet. — *Current Biology*, 17(16): R673–R683.
- Boomsma J. J., Huszár D. B. & Pedersen J. S. 2014: The evolution of multiqueen breeding in eusocial lineages with permanent physically differentiated castes. — *Animal Behaviour*, 92 (2014): 241–252.
- Bos N. & d’Ettorre P. 2012: Recognition of social identity in ants. — *Frontiers in Psychology*, 3: 1–6.
- Boulay R., Arnan X., Cerdá X. & Retana J. 2014: The ecological benefits of larger colony size may promote polygyny in ants. — *Journal of Evolutionary Biology*, 27: 2856–2863.
- Bourke A. F. G. & Chan G. L. 1999: Queen-Worker Conflict over Sexual Production and Colony Maintenance in Perennial Social Insects. — *The American Naturalist*, 154(4): 417–426.
- Bourke, A. F. G. 2014: Hamilton’s rule and the causes of social evolution. — *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 369: 20130362.
- Bowler D. E. & Benton T. G. 2005: Causes and consequences of animal dispersal strategies: relating individual behaviour to spatial dynamics. — *Biological Reviews*, 80: 205–225.
- Brian M. V. 1988: Queen Selection by Worker Groups of the Ant *Myrmica Rubra* L. — *Animal Behaviour* 36: 914–25.
- Brown, W. D. & Keller L. 2002: Queen Recruitment and Split Sex Ratios in Polygynous Colonies of the Ant *Formica exsecta*. — *Ecology Letters*, 5: 102–109.
- Brown, W. D., Liautard C. & Keller L. 2003: Sex-Ratio Dependent Execution of Queens in Polygynous Colonies of the Ant *Formica exsecta*. — *Oecologia*, 134: 12–17.

- Chapuisat M. & Keller L. 1999: Extended family structure in the ant *Formica paralugubris*: the role of the breeding system. — *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 46: 405–412.
- Chapuisat M., Bocherens S. & Rosset H. 2004: Variable queen number in ant colonies: No Impact on Queen Turnover, Inbreeding, and Population Genetic Differentiation in the Ant *Formica selysi*. — *Evolution*, 58(5): 1064–1072.
- Chapuisat M., Goudet J. & Keller L. 1997: Microsatellites reveal high population viscosity and limited dispersal in the ant *Formica paralugubris*. — *Evolution*, 51(2): 475–482.
- Cherix D., Chautems D., Fletcher D. J. C., Fortelius W., Gris G., Keller L., Passera L., Rosengren R., Vargo E. L. & Walter F. 1991: Alternative reproductive strategies in *Formica lugubris* Zett. (Hymenoptera Formicidae). — *Ethology Ecology & Evolution*, 3(1): 60–66.
- Clutton-Brock T. H., Brotherton P. N. M., Smith R., McIlrath G. M., Kansky R., Gaynor D., O'Riain M. J. & Skinner J. D. 1998: Infanticide and expulsion of females in a cooperative mammal. — *Proceedings of The Royal Society B*, 265: 2291–2295.
- Collingwood C. A. 1979: The Formicidae (Hymenoptera) of Fennoscandia and Denmark. — *Fauna Entomologica Scandinavica* 8, s.111–156.
- Comins H. N., Hamilton W. D. & May R. M. 1980: Evolutionarily Stable Dispersal Strategies. — *Journal of Theoretical Biology*, 82: 205–230.
- Cook J. M. 1993: Sex determination in the Hymenoptera: a review of models and evidence. — *Heredity*, 71(1993): 421–435.
- Crespi B. J. & Yanega D. 1995: The Definition of Eusociality. — *Behavioral Ecology*, 6(1): 109–115.
- Dahbi A., Cerdá X., Hefetz A. & Lenoir A. 1997: Adult transport in the ant *Cataglyphis iberica*: a means to maintain a uniform colonial odour in a species with multiple nests. — *Physiological Entomology*, 22: 13–19.
- Darwin C. 1859: On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life. — *John Murray (1859)*, W. Clowes and Sons, London.
- Debout G., Schatz B., Elias M. & McKey D. 2007: Polydomy in ants: what we know, what we think we know, and what remains to be done. — *Biological Journal of the Linnean Society*, 90: 319–348.
- Edwards J. P. 1987: Caste regulation in the pharaoh's ant *Monomorium pharaonis*: the influence of queens on the production of new sexual forms. — *Physiological Entomology*, 12: 31–39.
- Evans J. D. 1996: Queen longevity, queen adoption, and posthumous indirect fitness in the facultatively polygynous ant *Myrmica tahoensis*. — *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 39: 275–284.
- Farrell E. J., Úbeda F. & Gardner A. 2015: Intragenomic Conflict over Dispersal. — *The American Naturalist*, 186(3): E61–71.
- Fletcher D. J. C. & Blum M. S. 1981: Pheromonal Control of Dealation and Oogenesis in Virgin Queen Fire Ants. — *Science*, 212 (4490): 73–75.
- Fletcher D. J. C. & Blum M. S. 1982: Regulation of Queen Number by Workers in Colonies of Social Insects. — *Science*, 219(4582): 312–314.
- Fortelius W., Rosengren R., Cherix D. & Chautems D. 1993: Queen Recruitment in a Highly Polygynous Supercolony of *Formica lugubris* (Hymenoptera, Formicidae). — *Oikos*, 67(2): 193–200.
- Friend L. A. & Bourke A. F. G. 2012: Absence of Within-Colony Kin Discrimination in a Multiple-Queen Ant, *Leptothorax acervorum*. — *Ethology*, 118: 1182–1190.
- Frouz J., John R., Rupeš V., Cech G. & Marialigeti K. 2009: Aggression, cooperation, and relatedness among colonies of the invasive ant, *Monomorium pharaonis*, originating from different areas of the world. — *Biologia*, 64(1): 139–142.
- Gardner A. & West S. A. 2006: Demography, altruism, and the benefits of budding. — *Journal of Evolutionary Biology*, 19: 1707–1716.

- Guerrieri F. J., Nehring V., Jørgensen C. G., Nielsen J., Galizia C. G. & d'Ettorre P. 2009: Ants recognize foes and not friends. — *Proceedings of the Royal Society B*, 276: 2461–2468.
- Hamidi R., de Biseau J.-C., Bourguignon T., Segundo G. B. M., Fontenelle M. T. M. B., Quinet Y. 2017: Dispersal strategies in the highly polygynous ant *Crematogaster (Orthocrema) pygmaea* Forel (Formicidae: Myrmicinae). — *PLoS ONE*, 12(6): e0178813.
- Hamilton W. D. & May R. M. 1977: Dispersal in stable habitats. — *Nature*, 269: 578–581.
- Hamilton W. D. 1963: The Evolution of Altruistic Behavior. — *The American Naturalist*, 97(896): 354–356.
- Hamilton, W. D. 1964a: The Genetical Evolution of Social Behaviour. I. — *Journal of Theoretical Biology*, 7: 1–16.
- Hamilton, W. D. 1964b: The Genetical Evolution of Social Behaviour. II. — *Journal of Theoretical Biology*, 7: 17–52.
- Hannonen M., Sledge M. F., Turillazzi S. & Sundström L. 2002: Queen reproduction, chemical signalling and worker behaviour in polygyne colonies of the ant *Formica fusca*. — *Animal Behaviour*, 64: 477–485.
- Heinze J. & Tsuji K. 1995: Ant reproductive strategies. — *Researches on Population Ecology*, 37(2): 135–149.
- Heinze J. & Weber M. 2011: Lethal sibling rivalry for nest inheritance among virgin ant queens. — *Journal of Ethology*, 29: 197–201.
- Heinze J. 2008: The demise of the standard ant (Hymenoptera: Formicidae). — *Myrmecological News*, 11: 9–20.
- Heinze J., Hölldobler B. & Peeters C. 1994: Conflict and Cooperation in Ant Societies. — *Naturwissenschaften*, 81: 489–497.
- Helanterä H. & Sundström L. 2007: Worker Reproduction in *Formica* Ants. — *The American Naturalist*, 170(1): E14–E25.
- Helanterä, H., Strassmann J. E., Carrillo J. & Queller D. C. 2009: Uniclonal Ants: Where Do They Come from, What Are They and Where Are They Going? — *Trends in Ecology and Evolution*, 24(6): 341–349.
- Heller N. E. 2004: Colony structure in introduced and native populations of the invasive Argentine ant, *Linepithema humile*. — *Insectes Sociaux*, 51: 378–386.
- Helms Cahan S. & Vinson S. B. 2003: Reproductive division of labor between hybrid and nonhybrid offspring in a fire ant hybrid zone. — *Evolution*, 57(7): 1562–1570.
- Higashi S. & Yamauchi K. 1979: Influence of a supercolonial ant *Formica (Formica) yessensis* Forel on the distribution of other ants in Ishikari coast. — *Japanese Journal of Ecology*, 29: 257–264.
- Hoffmann B. D. 2014: Quantification of supercolonial traits in the yellow crazy ant, *Anoplolepis gracilipes*. — *Journal of Insect Science*, 14(25): 1–21.
- Hölldobler B. & Lumsden C. J. 1980: Territorial Strategies in Ants. — *Science*, 210: 732–739.
- Hölldobler B. & Wilson E. O. 1977: The Number of Queens: An Important Trait in Ant Evolution. — *Naturwissenschaften*, 64(1): 8–15.
- Holway D. A., Lach L., Suarez A. V., Tsutsui N. D. & Case T. J. 2002: The Causes and Consequences of Ant Invasions. — *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33: 181–233.
- Holzer, B., Chapuisat M., Kremer N., Finet C. & Keller L. 2006: Uniclonality, recognition and genetic differentiation in a native *Formica* ant. — *Journal of Evolutionary Biology*, 19: 2031–2039.
- Howard R. W. & Blomquist G. J. 2005: Ecological, Behavioral, and Biochemical Aspects of Insect Hydrocarbons. — *Annual Review of Entomology*, 50: 371–93.
- Inoue M. N., Ito F. & Goka K. 2015: Queen execution increases relatedness among workers of the invasive Argentine ant, *Linepithema humile*. — *Ecology and Evolution*, 5(18): 4098–4107.

- Keller L. & Passera L. 1989a: Influence of the number of queens on nestmate recognition and attractiveness of queens to workers in the Argentine ant, *Iridomyrmex lzumilis* (Mayr). — *Animal Behaviour*, 37: 733–740.
- Keller L. & Passera L. 1989b: Size and fat content of gynes in relation to the mode of colony founding in ants (Hymenoptera; Formicidae). — *Oecologia*, 80: 236–240.
- Keller L. & Ross K. G. 1999: Major gene effects on phenotype and fitness: the relative roles of Pgm-3 and Gp-9 in introduced populations of the fire ant *Solenopsis invicta*. — *Journal of Evolutionary Biology*, 12(1999): 672–680.
- Keller L. 1988: Evolutionary implications of polygyny in the Argentine ant, *Iridomyrmex humilis* (Mayr) (Hymenoptera: Formicidae): an experimental study. — *Animal Behaviour*, 36: 159–165.
- Keller L. 1991: Queen number, mode of colony founding, and queen reproductive success in ants (Hymenoptera Formicidae). — *Ethology Ecology & Evolution*, 3: 307–316.
- Keller L. 1995: Social life: the paradox of multiple-queen colonies. — *Trends in Ecology & Evolution*, 10(9): 355–360.
- Keller L., Passera L. & Suzzoni J. 1989: Queen execution in the Argentine ant, *Zridomyrmex humilis*. — *Physiological Entomology*, 14: 157–163.
- Kennedy P., Uller T. & Helanterä H. 2014: Are ant supercolonies crucibles of a new major transition in evolution? — *Journal of Evolutionary Biology*, 27: 1784–1796.
- Kidokoro-Kobayashi M., Iwakura M., Fujiwara-Tsujii N., Fujiwara S., Sakura M., Sakamoto H., Higashi S., Hefetz A., Ozaki M. 2012: Chemical Discrimination and Aggressiveness via Cuticular Hydrocarbons in a Supercolony-Forming Ant, *Formica yessensis*. — *PLoS ONE* 7(10): e46840.
- Klobuchar E. A. & Deslippe R. J. 2002: A queen pheromone induces workers to kill sexual larvae in colonies of the red imported fire ant (*Solenopsis invicta*). — *Naturwissenschaften*, 89: 302–304.
- Kulmuni J., Seifert B. & Pamilo P. 2010: Segregation distortion causes large-scale differences between male and female genomes in hybrid ants. — *PNAS*, 107(16): 7371–7376.
- Kümmerli R. & Keller L. 2006: Reproductive specialization in multiple-queen colonies of the ant *Formica exsecta*. — *Behavioral Ecology*, 18: 375–383.
- Kümmerli R., Helms K. R. & Keller L. 2005: Experimental manipulation of queen number affects colony sex ratio investment in the highly polygynous ant *Formica exsecta*. — *Proceedings of The Royal Society B*, 272: 1789–1794.
- Liautard C. & Keller L. 2001: Restricted Effective Queen Dispersal at a Microgeographic Scale in Polygynous Populations of the Ant *Formica exsecta*. — *Evolution*, 55(12): 2484–2492.
- Liebig J., Heinze J. & Hölldobler B. 1997: Trophallaxis and Aggression in the Ponerine Ant, *Ponera coarctata*: Implications for the Evolution of Liquid Food Exchange in the Hymenoptera. — *Ethology*, 103: 707–722.
- Loope K. J. 2015: Queen Killing Is Linked to High Worker-Worker Relatedness in a Social Wasp. — *Current Biology*, 25: 2976–2979.
- Maanmittauslaitos 2015: Paikkatietoikkuna, valitut tasot, puuston ikä 2015. <<https://url.fi/13EN>>, katsottu 7.6.2019.
- Markó B., Czekes Z., Erős K., Csata E. & Szász-Len A.-M. 2012: The largest polydomous system of *Formica* ants (Hymenoptera: Formicidae) in Europe discovered thus far in Romania. — *North-Western Journal of Zoology* 8(2): 287–291.
- Martin S. J., Helanterä H., Kiss K., Lee Y. R. & Drijfhout F. P. 2009: Polygyny reduces rather than increases nestmate discrimination cue diversity in *Formica exsecta* ants. — *Insectes Sociaux*, 56: 375–383.
- Martin S., Trontti K., Shemilt S., Drijfhout F., Butlin R. & Jackson D. 2012: Weak patriline effects are present in the cuticular hydrocarbon profiles of isolated *Formica exsecta* ants but they disappear in the colony environment. — *Ecology and Evolution*, 2(9): 2333–2346.

- Meunier J., Reber A. & Chapuisat M. 2011: Queen acceptance in a socially polymorphic ant. — *Animal Behaviour*, 81: 163–168.
- Mitteldorf J. & Wilson D. S. 2000: Population Viscosity and the Evolution of Altruism. — *Journal of Theoretical Biology*, 204: 481–496.
- Moffett M. W. 2012: Supercolonies of billions in an invasive ant: What is a society? — *Behavioral Ecology*, 23(5): 925–933.
- Moore D. 2016: Applied Survival Analysis Using R, Use R! — *Springer International Publishing*, Switzerland.
- Motro U. 1983: Optimal rates of dispersal III. Parent-offspring conflict. — *Theoretical Population Biology*, 23: 159–168.
- Motro U. 1991: Avoiding Inbreeding and Sibling Competition: The Evolution of Sexual Dimorphism for Dispersal. — *The American Naturalist*, 137(1): 108–115.
- Nonacs P. 1988: Queen Number in Colonies of Social Hymenoptera as Kin-Selected Adaptation. — *Evolution*, 42(3): 566–580.
- Ozan M., Helanterä H. & Sundström L. 2013: The value of oviposition timing, queen presence and kinship in a social insect. — *Proceedings of The Royal Society B*, 280: 20131231.
- Pamilo P. & Rosengren R. 1984: Evolution of nesting strategies of ants: genetic evidence from different population types of *Formica* ants. — *Biological Journal of the Linnean Society*, 21: 331–348.
- Pamilo P. 1982: Genetic population structure in polygynous *Formica* ants. — *Heredity*, 48(1): 95–106.
- Pamilo P. 1991: Evolution of colony characteristic in social insects II. Number of reproductive individuals. — *The American Naturalist*, 138(2): 412–433.
- Pascini T. V. & Martins G. F. 2017: The insect spermatheca: an overview. — *Zoology*, 121 (2017): 56–71.
- Passera L. & Keller L. 1990: Loss of mating flight and shift in the pattern of carbohydrate storage in sexuals of ants (Hymenoptera; Formicidae). — *Journal of Comparative Physiology B*, 160: 207–211.
- Passera L. & Keller L. 1992: The period of sexual maturation and the age at mating in *Iridomyrmex humilis*, an ant with intranidal mating. — *Journal of Zoology*, London, 228: 141–153.
- Passera L., Aron S. & Bach D. 1995: Elimination of sexual brood in the Argentine ant *Linepithema humile*: queen effect and brood recognition. — *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 75: 203–212.
- Punntila P. & Kilpeläinen J. 2009: Distribution of Mound-Building Ant Species (*Formica* spp., Hymenoptera) in Finland: Preliminary Results of a National Survey. — *Annales Zoologici Fennici*, 46(1): 1–15.
- Queller D. C. & Strassmann J. E. 1998: Kin Selection and Social Insects. — *BioScience*, 48(3): 165–175.
- Queller D. C. 1992: Does population viscosity promote Kin Selection? — *Trends in Ecology and Evolution*, 7(10): 322–324.
- Ratnieks F. L.W., Foster K. R. & Wenseleers T. 2006: Conflict Resolution in Insect Societies. — *Annual Review of Entomology*, 51: 581–608.
- Reeve H. K. 1989: The Evolution of Conspecific Acceptance Thresholds. — *The American Naturalist*, 133(3): 407–35.
- Roitberg B. D. & Mangel M. 1993: Parent-Offspring Conflict and Life-History Consequences in Herbivorous Insects. — *The American Naturalist*, 142(3): 443–456.
- Savolainen R. & Vepsäläinen K. 1988: A competition hierarchy among boreal ants: impact on resource partitioning and community structure. — *Oikos*, 51: 135–155.

- Schmaltz G., Quinn J. S. & Lentz C. 2008: Competition and waste in the communally breeding smooth-billed ani: effects of group size on egg-laying behaviour. — *Animal Behaviour*, 76: 153–162.
- Schultner E., Saramäki J. & Helanterä H. 2016: Genetic structure of native ant supercolonies varies in space and time. — *Molecular Ecology*, 25: 6196–6213.
- Schwander T., Lo N., Beekman M., Oldroyd B. P. & Keller L. 2010: Nature versus nurture in social insect caste differentiation. — *Trends in Ecology and Evolution*, 25(5): 275–282.
- Seifert B. 2010: Intranidal mating, gyne polymorphism, polygyny, and supercoloniality as factors for sympatric and parapatric speciation in ants. — *Ecological Entomology*, 35(1): 33–40.
- Seifert B., Kulmuni J. & Pamilo P. 2010: Independent hybrid populations of *Formica polyctena* X *rufa* wood ants (Hymenoptera: Formicidae) abound under conditions of forest fragmentation. — *Evolutionary Ecology*, 24: 1219–1237.
- Seppä P., Johansson H., Gyllenstrand N., Pålsson S. & Pamilo P. 2012: Mosaic structure of native ant supercolonies. — *Molecular Ecology*, 21: 5880–5891.
- Seppä P., Sundström L. & Puntila P. 1995: Facultative polygyny and habitat succession in boreal ants. — *Biological Journal of the Linnean Society*, 56: 533–551.
- Sorensen A. A., Busch T. M. & Vinson S. B. 1983: Factors Affecting Brood Cannibalism in Laboratory Colonies of the Imported Fire Ant, *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera: Formicidae). — *Journal of The Kansas Entomological Society*, 56(2): 140–150.
- Sorvari J. 2013: Proximity to the Forest Edge Affects the Production of Sexual Offspring and Colony Survival in the Red Wood Ant *Formica aquilonia* in Forest Clear-Cuts. — *Scandinavian Journal of Forest Research*, 28(5): 451–55.
- Sorvari J., Theodora P., Turillazzi S., Hakkarainen H. & Sundström L. 2008: Food resources, chemical signaling and nest mate recognition in the ant *Formica aquilonia*. — *Behavioral Ecology*, 19: 441–47.
- Starrfelt J. & Kokko H. 2010: Parent-Offspring Conflict and the Evolution of Dispersal Distance. — *The American Naturalist*, 175(1): 38–49.
- StatsDirect 2019: Cox (Proportional Hazards) Regression. <[https://www.statsdirect.com/help/survival\\_analysis/cox\\_regression.htm](https://www.statsdirect.com/help/survival_analysis/cox_regression.htm)>, katsottu 7.6.2019.
- Stockan J. A. & Robinson J. H. 2016: Wood Ant Ecology and Conservation. — *Gambridge University Press*, 2016.
- Stroeymeyt N., Joye P. & Keller L. 2017: Polydomy enhances foraging performance in ant colonies. — *Proceedings of The Royal Society B*, 284: 20170269.
- Stuart R. J., Gresham-Bissett L. & Alloway T. M. 1993: Queen adoption in the polygynous and polydomous ant, *Leptothorax curvispinosus*. — *Behavioral Ecology*, 4(3): 276–281.
- Sturgis S. J. & Gordon D. M. 2012: Nestmate recognition in ants (Hymenoptera: Formicidae): a review. — *Myrmecological News*, 16: 101–110.
- Sundström L. 1997: Queen acceptance and nestmate recognition in monogyne and polygyne colonies of the ant *Formica truncorum*. — *Animal Behaviour*, 53: 499–510.
- Sundström L., Seppä P. & Pamilo P. 2005: Genetic population structure and dispersal patterns in *Formica* ants — a review. — *Annales Zoologici Fennici*, 42: 163–177.
- Therneau T. M. 2018: coxme: Mixed Effects Cox Models. <<https://CRAN.R-project.org/package=coxme>>, katsottu 7.6.2019.
- Thomas M. L., Payne-Makrisâ C. M., Suarez A. V., Tsutsui N. D. & Holway D. A. 2006: When supercolonies collide: territorial aggression in an invasive and unicolonial social insect. — *Molecular Ecology*, 15: 4303–4315.
- Trivers, R. L. & Hare H. 1976: Haplodiploidy and the Evolution of the Social Insects. — *Science*, 191(4224): 249–63.
- Trivers, R. L. 1974: Parent-Offspring Conflict. — *American Zoologist*, 14: 249–264.



- Tsutsui N. D., Suarez A. V., Holway D. A. & Case T. J. 2000: Reduced genetic variation and the success of an invasive species. — *PNAS*, 97(11): 5948–5953.
- van der Hammen T., Pedersen J. S. & Boomsma J. J. 2002: Convergent development of low-relatedness supercolonies in *Myrmica* ants. — *Heredity*, 89: 83–89.
- van Valen L. 1971: Group selection and the evolution of dispersal. — *Evolution*, 25(4): 591–598.
- Vargo E. L. & Passera L. 1991: Pheromonal and behavioral queen control over the production of gynes in the Argentine ant *Iridomyrmex humilis* (Mayr). — *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 28: 161–169.
- Vepsäläinen K. & Savolainen R. 2016: Suomen muurahaisten määrityskaava, Versio 30.8.2016-10.
- West S. A. & Gardner A. 2010: Altruism, Spite and Greenbeards. — *Science*, 327: 1341–1344.
- Wheeler D. E. & Buck N. A. 1996: Depletion of reserves in ant queens during claustral colony founding. — *Insectes Sociaux*, 43: 297–302.
- Wheeler, W. M. 1911: The Ant-colony as an Organism. — *Journal of Morphology*, 22(2): 307–325.
- Whiteside H. M., Dawson D. A., Soulsbury C. D. & Harris S. 2011: Mother Knows Best: Dominant Females Determine Offspring Dispersal in Red Foxes (*Vulpes vulpes*). — *PLoS ONE*, 6(7): e22145.
- Wilson E. O. & Hölldobler B. 2005: Eusociality: Origin and consequences. — *PNAS*, 102(38): 13367–13371.
- Wilson E. O. 2008: One Giant Leap: How Insects Achieved Altruism and Colonial Life. — *BioScience*, 58(1): 17–25.
- Zinck L., Châline N. & Jaisson P. 2009: Absence of Nepotism in Worker–Queen Care in Polygynous Colonies of the Ant *Ectatomma tuberculatum*. — *Journal of Insect Behaviour*, 22: 196–204.



## 8. Liitteet

### Liite 1. Kartoittamieni kekojen kuvat (4 nimeämätöntä)







MY518



MY618



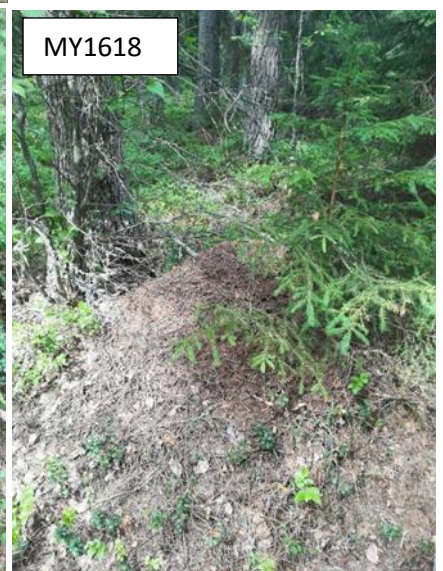
MY918



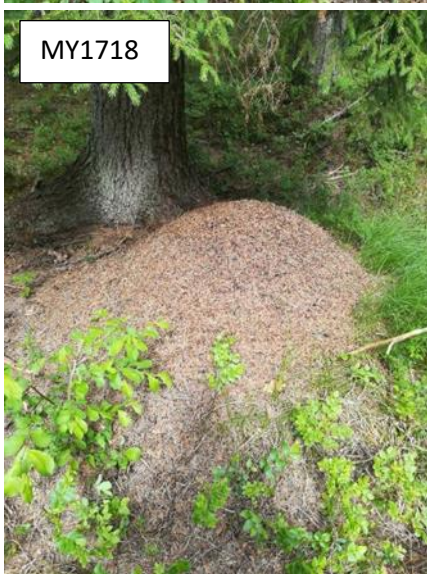
MY1018



MY1518



MY1618



MY1718



MY1818



MY1918





MY20145



MYES1



MYES2



MY3018, kaksi kekoa, joiden välillä yhdyssilta ojan yli



MYES3



MYSH16



MYSH161









ROS118



SANJA1



## Liite 2. R-ohjelmistoon syötetyt koodit

```
> setwd("C:/Users/Rosanna/Desktop/murkut")
> pilot<-read.table("Faquilonia_18.csv", header = TRUE, sep = ";")
> str(pilot)
> summary(pilot)

> library(survival)
> library(multcomp)

> ##sample size
> survfit(Surv(time, censored)~ treatment, data=pilot)

> ##survival plot all
> plot(survfit(Surv(time, censored)~ treatment, data=pilot), col=c(1,2,3,4,5,6), lty=1,
lwd=3, cex.axis=1.5, cex.lab=1.5, ylab="survival", xlab="time", main="Queen survival")
> legend("bottomleft", c("NQT", "NQVQ", "NQVQT", "NQVQTV", "NQVQV", "VQTV"), bty="n", lwd=3, col=c(1,2,3,4,5,6), lty=1, cex=1.3, pt.cex=1)
> #how to check the order of legends
> survfit(Surv(time, censored)~ treatment, data=pilot)
> library(coxme)
> #model: treatment is fixed, Tnest and expnest are random effects

> mod6<-coxme(Surv(time, censored) ~ treatment + (1|Tnest) + (1|expnest), data=pilot)
> summary(mod6)

>#planned comparison of treatments
> comps3<-c("NQT - NQVQT = 0", "NQT - NQVQ = 0",
+           "NQVQ - NQVQV = 0",
+           "NQVQT - NQVQTV = 0", "NQT - VQTV = 0", "NQVQV - VQTV = 0", "NQVQTV
> #test(coxme): planned comparison of treatments(rauno)
> rauno<-glht(mod6,linfct=mcp(treatment=comps3), test=adjusted(type="fdr"))
> summary(rauno)

>#different nests in treatment NQVQT
> setwd("C:/Users/Rosanna/Desktop/murkut")
> pilot<-read.table("Faquilonia_18_NQVQT.csv", header = TRUE, sep = ";")
> str(pilot)
> summary(pilot)

> library(survival)
> library(multcomp)

> ##sample size
> survfit(Surv(time, censored)~ Tnest, data=pilot)

> #plot NQVQT
> plot(survfit(Surv(time, censored)~ Tnest, data=pilot), col=c(1,2,3,4,5,6), lty=1, lwd=
3, cex.axis=1.5, cex.lab=1.5, ylab="survival", xlab="time", main="Queen survival NQVQT")
> legend("bottomleft", c("MY2HH16", "MYSH16", "MYSH1610", "MYSH163", "SANJA1"), bty="n",
lwd=3, col=c(1,2,3,4,5), lty=1, cex=1.3, pt.cex=1)
> #how to check the order of legends
> survfit(Surv(time, censored)~ Tnest, data=pilot)

> library(coxme)
> #model: Tnest is fixed, expnest is random effect
> mod6<-coxme(Surv(time, censored) ~ Tnest + (1|expnest), data=pilot)
> summary(mod6)
> #planned comparison of treatments(pekka)
> comps3<-c("MY2HH16 - MYSH163 = 0", "MY2HH16 - MYSH16 = 0", "MY2HH16 - MYSH1610 = 0", "
SANJA1 - MYSH163 = 0", "SANJA1 - MYSH1610 = 0", "SANJA1 - MYSH16 = 0", "SANJA1 - MY2HH16
= 0", "MYSH163 - MYSH1610 = 0", "MYSH163 - MYSH16 = 0", "MYSH16 - MYSH1610 = 0")
> pekka<-glht(mod6,linfct=mcp(Tnest=comps3), test=adjusted(type="fdr"))
> summary(pekka)
```